



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO  
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS  
AMBIENTAIS

RAFAELA ALVES DE LIRA

**MICROBIOTA DO SEDIMENTO DA  
CAVERNA CATEDRAL, FELIPE GUERRA-RN, BRASIL**

Recife

2023

RAFAELA ALVES DE LIRA

**MICROBIOTA DO SEDIMENTO DA  
CAVERNA CATEDRAL, FELIPE GUERRA-RN, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador (a): Cristina Maria de Souza-Motta

Coorientador (a): Joenny Maria da Silveira de Lima

Cidade

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Lira, Rafaela Alves de .  
Micobiota do sedimento da Caverna Catedral, Felipe Guerra-RN, Brasil. /  
Rafaela Alves de Lira. - Recife, 2023.  
65 : il., tab.

Orientador(a): Cristina Maria de Souza-Motta  
Coorientador(a): Joenny Maria da Silveira de Lima  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de  
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências  
Ambientais - Bacharelado, 2023.

1. Micologia . 2. Caverna. 3. Taxonomia . I. Souza-Motta, Cristina Maria  
de. (Orientação). II. Lima, Joenny Maria da Silveira de. (Coorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

RAFAELA ALVES DE LIRA

**MICROBIOTA DO SEDIMENTO DA  
CAVERNA CATEDRAL, FELIPE GUERRA-RN, BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação apresentado ao Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel.

Aprovada em: 24 / 04 / 2023

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Profa. Dra CRISTINA MARIA DE SOUZA-MOTTA / UFPE

---

Prof. Dr. ROGER FAGNER RIBEIRO MELO / UFPE

---

Dr. EDER SILVA BARBIER / UFPE

Cidade

2023

Dedico este trabalho a minha irmã caçula, Renata Vitória,  
que assim como eu é apaixonada pela ciência.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, por me dar saúde e forças para finalizar essa etapa em minha vida.

À minha família por todo ensinamento e amor.

Meu noivo, Matheus Assis, por todo suporte emocional, amor e compreensão.

Minha co-orientadora e amiga MSc. Joenny Maria da Silveira de Lima, por sempre acreditar em mim, por ter me ensinado tanto e me ajudado em todos os momentos em que precisei de sua ajuda.

À MSc. Vitória Cristina Santiago Alves, amiga e pesquisadora, por todo suporte, apoio e preocupação com meu trabalho.

Minha orientadora Profa.<sup>a</sup> Dra.<sup>a</sup> Cristina Maria de Souza Motta pelas orientações ao longo desses anos e pela sua confiança em meu trabalho.

Meu amigo, Jonas George, por todo suporte técnico.

Aos amigos do Laboratório de Taxonomia e Biotecnologia, Laureana, Jennifer e Silvio, por toda ajuda e risadas durante esses anos.

Aos meus antigos professores do ensino fundamental e médio, como os professores da UFPE, que fizeram parte do meu crescimento e aprendizado.

À Universidade Federal de Pernambuco, pelo acolhimento.

Ao Cnpq pelo auxílio financeiro durante esses anos de bolsista Pibic.

Quando nos deparamos com a entrada de uma caverna somos tomados por um sentimento misto, de temor e desejo; temor das trevas, do desconhecido e desejo de encontrar ali as chaves de mistérios ainda sequer suspeitados.”

Leonardo da Vinci apud Lino (2001)

## RESUMO

Os fungos são organismos que conseguem habitar diversos ambientes, com diferentes níveis de temperatura, umidade, pH e nutrientes. Eles possuem importante papel ecológico na estruturação dos ecossistemas cavernícolas, pois participam da decomposição de matéria orgânica presente nesses ambientes. As cavernas são cavidades naturais com fatores abióticos relativamente estáveis, abrigam uma rica diversidade de microrganismos, e a maioria não possui incidência de luz, tornando esses ambientes oligotróficos extremos. Este estudo buscou avaliar a microbiota presente no sedimento da caverna Catedral, localizada no Sítio do Rosário, município de Felipe Guerra/RN. Foram coletadas amostras do sedimento em quatro pontos da caverna, cada amostra foi acondicionada em recipientes esterilizados para processamento em laboratório. As amostras foram coletadas em triplicata. Para o isolamento, 1 g de sedimento foi suspenso em 9 mL de água para realização das diluições seriadas e o plaqueamento direto, posteriormente as placas foram incubadas a 25 °C, por até 14 dias, no escuro. Para identificação dos fungos, foram realizadas análises morfológicas e filogenéticas utilizando sequências do rDNA com primers específicos. Ao todo foram obtidos 62 isolados de fungos. Todas as espécies identificadas pertencem ao filo Ascomycota, sendo *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Humicola* e *Penicillium*, os gêneros mais frequentes. Alguns gêneros fitopatogênicos de grande importância econômica como *Acremonium*, *Didymella* e *Phaeosphaeria* foram isolados, assim como espécies potencialmente patogênicas ao ser humano (p. ex.: *Alternaria alternata*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus welwitschiae*, *Microascus trigonosporus*) e outras referenciadas como tendo grande potencial biotecnológico. Com base nos resultados obtidos, destacamos a importância de pesquisas com prospecção em ambientes cavernícolas, melhorando assim, a compreensão acerca de sua microbiota. O presente estudo proporcionou o conhecimento da abundância e riqueza de fungos presentes no sedimento da caverna Catedral, contribuindo para futuros estudos associados à biodiversidade fúngica e com a elaboração de planos de manejo de cavernas do domínio Caatinga.

**Palavras-chave:** Ascomycota. Fungos. Taxonomia.

## ABSTRACT

Fungi are organisms that can inhabit different environments, with different levels of temperature, humidity, pH and nutrients. They play an important ecological role in structuring cave ecosystems, as they participate in the decomposition of organic matter in these environments. Caves are natural cavities with relatively stable abiotic factors, harbor a rich diversity of microorganisms, and most have no incidence of light, making these environments extremely oligotrophic. In this way, the study sought to evaluate the mycobiota present in the sediment of the Cathedral cave, located in Sítio do Rosário, in the municipality of Felipe Guerra/RN. Sediment samples were collected at four points in the cave, each sample was placed in sterilized containers for laboratory processing. Samples were collected in triplicate. For isolation, 1 g of sediment was suspended in 9 mL of water, for serial dilutions and direct plating, subsequently incubated at 25 °C for up to 14 days in the dark. To identify the fungi, morphological and phylogenetic analyzes were performed using rDNA sequences with specific primers. Overall, 62 fungal isolates were obtained. All identified species belong to the phylum Ascomycota, with *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Humicola* and *Penicillium* being the most frequent genera. Some phytopathogenic genera of great economic importance such as *Acremonium*, *Didymella* and *Phaeosphaeria* were isolated, as well as species potentially pathogenic to humans (e.g., *Alternaria alternata*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus welwitschiae*, *Microascus trigonosporus*) and others referenced as having great biotechnological potential. Based on the results obtained, we highlight the importance of prospecting research in cave environments, thus improving the understanding of its mycobiota. The present study provided knowledge of the abundance and richness of fungi present in the Cathedral cave sediment, contributing to future studies associated with fungal biodiversity and the elaboration of management plans for caves in the Caatinga domain.

**Keywords:** Ascomycota. Fungi. Taxonomy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Tipos de espeleotemas que podem ser observados em cavernas. 17
- Figura 2 – Mapa dos biomas brasileiros. 19
- Figura 3 – Mapa topográfico da Caverna Catedral - RN. 20
- Figura 4 – Caverna Catedral - RN, Brasil. A) Entrada principal com escalada pela fenda; B) Segunda entrada opcional (claraboia); C) Salão principal; D) Diferentes ornamentos na área mais interna. 21
- Figura 5 – Mapa com os pontos de coleta da caverna Catedral-RN. 32
- Figura 6 – Processo de isolamento dos fungos da Caverna Catedral/RN. A= Amostras de sedimento. B e C= Diluições das amostras. D= Plaqueamento nos meios BHI e SAB. 33
- Figura 7 – Amostras de sedimento da Caverna Catedral para isolamento dos fungos em câmara úmida. 33
- Figura 8 – Árvore de máxima verossimilhança obtida utilizando sequências de ITS do rDNA de alguns representantes dos fungos da caverna Catedral - RN, Brasil. Valores de suporte maiores que 85% são mostrados próximos dos nós. *Rhodotorula phylloplana* CBS 8073T foi utilizado como grupo externo. Os isolados obtidos neste estudo estão representados na cor azul e as espécies tipo com o T. 38
- Figura 9 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: conidióforo e conídios (B), de um isolado representativo do gênero *Aspergillus* cultivado em MEA por sete dias a 25 °C. 41
- Figura 10 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: conidióforos com conídios em cadeia (B), de um dos isolados do gênero *Penicillium* cultivado em MEA por sete dias a 25 °C. 41
- Figura 11 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: conidióforo e conídios (B) de um dos isolados do gênero *Talaromyces* cultivado em CYA por sete dias a 25 °C. 42

- Figura 12 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: Hifas e conídios (B) de um dos isolados do gênero *Acremonium* cultivado em MEA por 14 dias a 25 °C. 42
- Figura 13 – Morfologia macroscópica: verso (A) e reverso (B) de um dos isolados do gênero *Phaeosphaeria* cultivado em SNA por 14 dias a 25 °C. 43
- Figura 14 – Morfologia macroscópica: verso (A) e reverso (B) de um dos isolados do gênero *Wardomyces* cultivado em SNA por 14 dias a 25 °C. 43
- Gráfico 1 – Abundância dos fungos do sedimento da caverna Catedral - RN. 37
- Gráfico 2 – Riqueza dos fungos do sedimento da caverna Catedral - RN. 40

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos fungos do sedimento da caverna Catedral - RN. 36
- Tabela 2 – Riqueza das espécies de fungos filamentosos provenientes do sedimento de cada ponto da caverna Catedral, RN, Brasil. Onde (\*) presença e (-) ausência. 39

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SAB	Ágar Sabourad Dextrose
BenA	$\beta$ -tubulina
BDA	Batata dextrose ágar
BHI	Infusão cérebro-coração
CECAV	Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CmdA	Calmodulina
CYA	Ágar extrato de levedura czapek
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICMBIO	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
ITS	regiões espaçadoras transcritas internas e interveniente 5.8S rRNA
LSU	Subunidade grande
MEA	Ágar extrato de malte
MMA	Ministério do Meio Ambiente
NCBI	Centro Nacional de Informação Biotecnológica
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RN	Rio Grande do Norte
RPB2	rDNA, RNA segunda maior subunidade da polimerase II
SNA	Ágar sintético deficiente em nutrientes
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	<b>16</b>
2.1	CAVERNAS	16
2.1.1	<b>Cavernas no Brasil</b>	18
2.1.2	<b>Caverna Catedral</b>	20
2.1.3	<b>Biota cavernícola</b>	22
2.2	FUNGOS	22
2.2.1	<b>Fungos cavernícolas</b>	25
2.2.2	<b>Fungos no sedimento</b>	27
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>30</b>
3.1	OBJETIVO GERAL	30
3.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	30
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>31</b>
4.1	ÁREA DE TRABALHO	31
4.2	ISOLAMENTO DOS FUNGOS	32
4.3	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS	34
4.4	OBTENÇÃO DO MICÉLIO PARA EXTRAÇÃO DO rDNA	34
4.5	PCR E SEQUENCIAMENTO	34
4.6	ALINHAMENTO DAS SEQUÊNCIAS E ANÁLISE FILOGENÉTICA	35
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>36</b>
5.1	ABUNDÂNCIA DE FUNGOS	36
5.2	RIQUEZA	37
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>44</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>50</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>51</b>



## 1. INTRODUÇÃO

Os fungos são organismos cosmopolitas (PEAY et al. 2016), e podem habitar praticamente todos os ecossistemas (BAJPAI et al. 2019). Existem espécies que possuem uma grande variedade de habitats e espécies mais limitadas devido a fatores ambientais, podendo ser endêmicas em nichos ecológicos específicos (OLIVEIRA et al. 2019).

Existem diversas ocorrências de fungos em substratos cavernícolas, como alguns sedimentos, matéria orgânica em decomposição, ar e guano (TAYLOR et al. 2013; CUNHA et al. 2020). De acordo com Shapiro e Pringle (2010), estudos têm demonstrado que o grupo mais comum de fungos presentes nas cavernas pertencem ao filo Ascomycota. As espécies desse grupo são conhecidas como fungos decompositores e parasitas, sendo importantes para o equilíbrio do ecossistema cavernícola. Boa parte é encontrada na forma de esporo nos ambientes subterrâneos, e entram nesses locais carregados por diferentes formas de movimentação (VANDERWOLF et al. 2013; PUSZ et al. 2014).

A maior parte de fungos encontrados no sedimento é proveniente do fluxo de movimentação que o ambiente possui, seja através das correntes de ar ou pela circulação de animais e humanos (VANDERWOLF et al. 2013). Estudos apontam que cavernas onde possuem visitas, são mais propícias a possuir um número maior na distribuição de microrganismos, pois os visitantes acabam dispersando, ao longo da trilha turística, detritos podendo conter micélios e esporos fúngicos (JURADO et al. 2010, 2021).

Dentre a maioria dos estudos micológicos em ambientes cavernícolas, se dá um grande enfoque à espécie *Histoplasma capsulatum*, que pode ser encontrada em sua forma filamentosa no guano de morcegos e solos de cavernas. Este organismo possui um alto potencial patogênico, pois é conhecido como causador da histoplasmose, uma infecção provocada via inalação dos seus conídios (VICENTINI et al. 2012). Por outro lado, os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Penicillium* são os mais relatados em cavernas (VANDERWOLF et al. 2013; CUNHA et al. 2020; ALVES et al. 2022; GRBIĆ et al. 2022). De acordo com Taylor e colaboradores (2014), *Aspergillus* e *Penicillium* são abundantes no sedimento de ambientes cavernícolas.

Cavernas são cavidades naturais subterrâneas, possuindo diferentes origem litológica (TRAVASSOS, 2019) e abrigam uma biota subterrânea, com diversas espécies de fauna e flora (OGÓREK et al. 2013). Segundo a resolução 347/2004 do CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente), é todo e qualquer espaço subterrâneo que caiba um ser humano, podendo ser conhecida popularmente como caverna, gruta, lapa, toca, abismo, furna e buraco, sendo sua formação originada de processos naturais, independentemente de suas dimensões ou tipo de rocha (CANIE, 2017).

Existem algumas espécies que fazem parte desse ecossistema cavernícola, e foram relatadas e descritas, como troglóbios, troglófilos e troglógenos (ZHANG et al. 2017, 2021). Países neotropicais, como o Brasil, possuem ambientes subterrâneos com alta e baixa riqueza e abundância de espécies. A Caatinga é um bom exemplo, apresentando um grande número de cavernas, que são pouco conhecidas e estudadas (OTÁLORA-ARDILA et al. 2020). A importância da biodiversidade da Caatinga é relatada em diversos estudos (BEZERRA et al. 2014; OTÁLORA-ARDILA et al. 2020). Porém, a Caatinga se encontra entre os três biomas mais degradados do Brasil, com mais da metade de área alterada pela ação humana (ALVAREZ & OLIVEIRA, 2013).

Segundo o ICMBio (2020), a caverna Catedral, que está localizada em Felipe Guerra-RN, ainda possui pouca informação acerca de sua biota e, principalmente, sobre a sua microbiota. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo, isolar e caracterizar morfológica e filogeneticamente fungos presentes no sedimento (solo e guano de morcegos), da Caverna Catedral - RN, Brasil e detectar, ainda, a presença de fungos potencialmente patogênicos para os seres humanos.

## 2. FUNDAMENTÇÃO TEÓRICA

### 2.1 CAVERNAS

A heterogeneidade de habitat é um dos fatores com uma importante participação nos gradientes de diversidade dos seres vivos. Quanto maior a complexidade de um habitat, maior a capacidade do mesmo de permitir a coexistência de mais espécies, pois haverá provavelmente uma maior quantidade de micro-habitats a serem ocupados (STEIN et al. 2014). O ambiente cavernícola possui características que o tornam único, dispondo de espécies específicas desse habitat (ZAMPAULO, 2015).

As cavernas podem se apresentar de diversas formas referente à sua estrutura e características, dependendo do ambiente que está inserida e dos fatores abióticos presentes (TRAVASSOS, 2019). Existem cavernas que tendem a ter seu ambiente interno diferenciado do meio externo, caracterizado pela falta de luz, pela baixa variação de temperatura e umidade (TAYLOR, 2013). Por outro lado, algumas apresentam uma pequena porção de luz, pelo contato com o meio externo através de claraboias. No Nordeste Brasileiro, a Caverna Catedral, Abrigo do Letreiro, Furna Feia, Crotas, entre outras, possuem aberturas com o meio externo (ICMBio/CECAV, 2020), esse contato entre os meios influencia na entrada de organismos para o ambiente subterrâneo, seja através de correntes de ar ou de forma ativa por animais (ZAMPAULO, 2015).

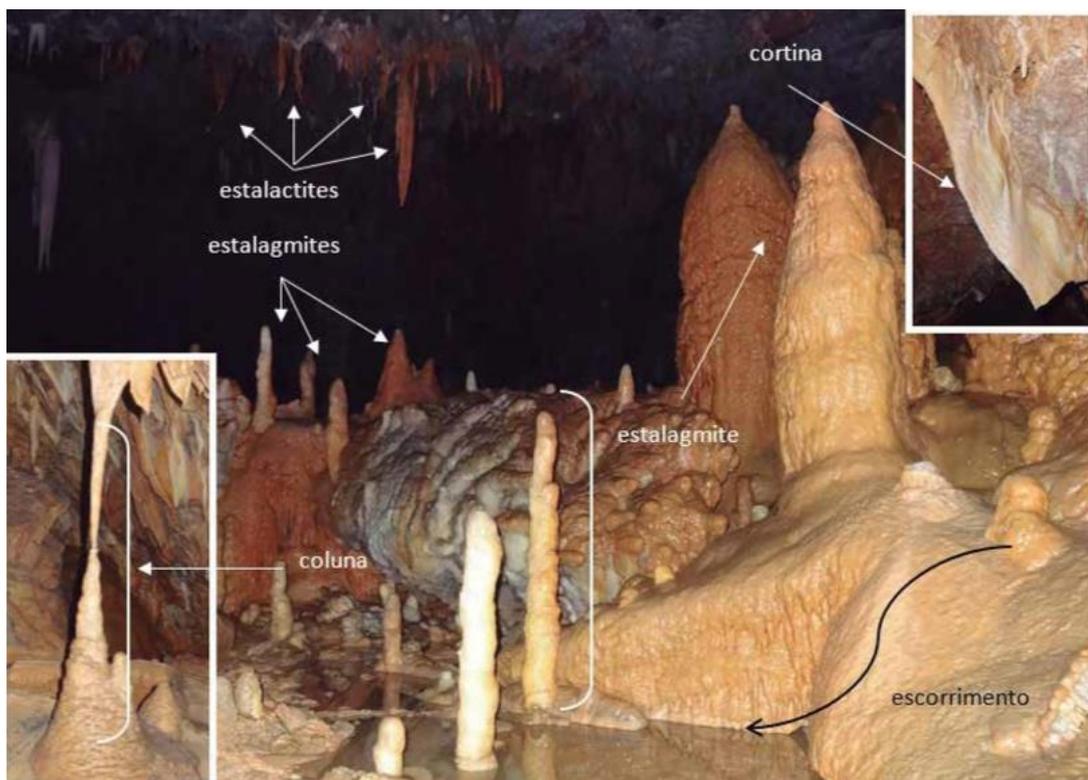
O ambiente cavernícola possui grande complexidade, com alto potencial ecológico resultante do isolamento do ambiente externo, bem como, sua temperatura, umidade e nutrientes mais restritos (POULSON & WHITE, 1969). A estabilidade ambiental é outro aspecto de notável importância, pois pouca variação ocorre em parâmetros como temperatura e umidade relativa do ar, contudo, essa estabilidade não é contínua em todo seu segmento (GANEM, 2009). Em cavernas extensas, a umidade e a temperatura possuem baixa variação nos locais mais distantes da entrada (HOWARTH, 1980). Por outro lado, as de menor extensão apresentam oscilações notáveis, causadas por variações no ambiente externo (POULSON & WHITE, 1969).

Cada ecossistema cavernícola é único e bastante atraente do ponto de vista turístico, podendo possuir rios subterrâneos, lagos, fósseis, pinturas rupestres, além

de ornamentos que proporcionam uma beleza cênica que caracteriza o ambiente (NOVÁKOVÁ et al. 2012). Esses ornamentos são formados por depósitos minerais que se acumulam no chão, teto e paredes das cavernas, sendo chamados de espeleotemas, aqueles formados por depósitos de minerais secundários através de uma solução química ou da solidificação de fluidos (SPOLADORE, 2007). Também existem os espeleogens, relacionado à estrutura da rocha que sofre erosão formando cavidades nas paredes, teto e piso (AULER, 2006).

Os espeleotemas são elementos importantes para a composição do ambiente cavernícola, apresentando variados tipos. Os mais comuns presentes em algumas cavernas com rota turística são as estalactites, ocorrem no teto e possuem crescimento para baixo, e as estalagmites, são inversas, possui origem no chão e cresce direcionado para o teto (Figura 1) (TRAVASSOS, 2019).

Figura 1 – Tipos de espeleotemas que podem ser observados em cavernas.



Fonte: Travassos (2019).

A abertura de cavernas para o turismo em massa pode ocasionar modificações estruturais das cavidades para melhor atender aos visitantes (NOVÁKOVÁ et al. 2012). Tal feito, resulta em impactos diretos na biodiversidade,

e subsequente recolonização, podendo causar surtos indesejáveis de bactérias e fungos (JURADO et al. 2009); além de comprometer a atuação desses microrganismos na cadeia trófica desses ambientes (VANDERWOLF et al. 2013).

### **2.1.1 Cavernas no Brasil**

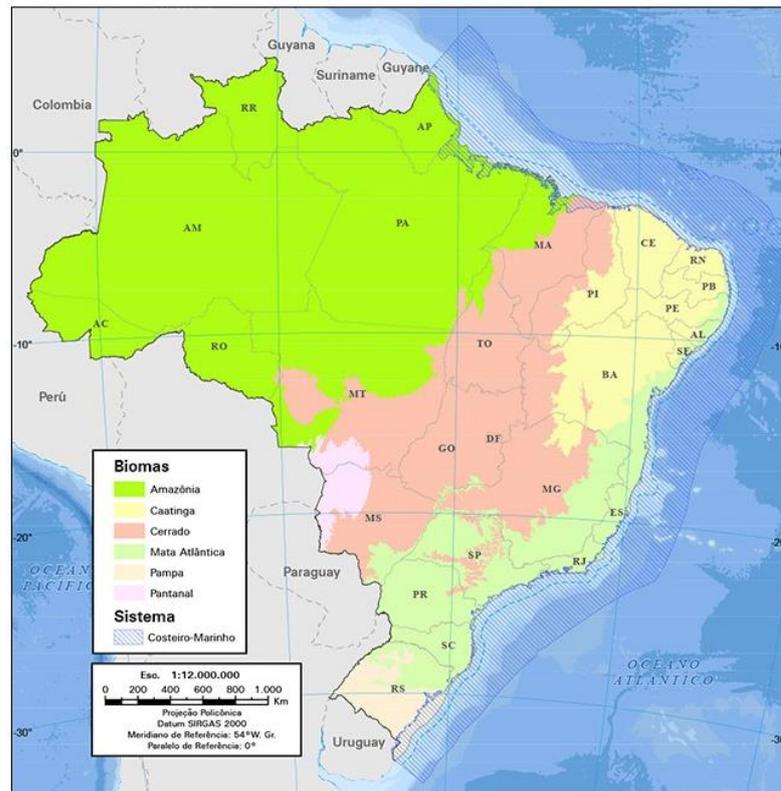
Segundo o Ministério do Meio Ambiente (2023), o Brasil é reconhecido como um país megadiverso, abrigando a maior biodiversidade do planeta. Possui um clima predominantemente tropical, comportando seis biomas com grandes diferenças e especificidades, que permite uma grande diversificação na sua biogeografia (COUTINHO, 2016). Além disso, as diferentes regiões que compõem o território brasileiro, abrigam uma vasta riqueza do patrimônio espeleológico (ICMBio/CECAV, 2020).

Atualmente, no território brasileiro existem mais de 20.000 cavernas catalogadas e distribuídas por toda a sua extensão, contudo, estima-se que o país abrigue cerca de 310.000 cavernas, estando algumas delas entre as mais espetaculares do mundo (BERNARD et al. 2022). A cada ano esse número cresce consideravelmente, devido às atividades de mapeamento de novas cavidades naturais subterrâneas (ICMBio/CECAV, 2022).

O maior número de cavernas registradas no Brasil pertence ao estado de Minas Gerais, seguido pelo Pará, Bahia e Rio Grande do Norte. A soma da quantidade de cavernas desses estados representa mais de 70% das cavernas conhecidas no Brasil (ICMBio/CECAV, 2022). Já para a distribuição de cavernas por biomas, o Cerrado é o maior detentor do número de registros cavernícolas, seguido pela Mata Atlântica, Amazônia e a Caatinga, enquanto o Pampa e o Pantanal ainda possuem poucos registros (ICMBio/CECAV, 2020). Contudo, de acordo com Leal (2021), apesar do grande quantitativo de registros cavernícolas para esse bioma, inúmeras cavernas da Caatinga, bem como, sua biota, ainda permanecem pouco exploradas.

Dentre os biomas do território nacional, a Caatinga se destaca por ser o único exclusivamente brasileiro (MMA, 2022), ocupando cerca de 10% do território nacional, o que representa 862.818 km<sup>2</sup> de área (IBGE, 2019), e 70% da região Nordeste, abrangendo oito, dos nove estados nordestinos, além de estar presente em uma pequena parcela do norte de Minas Gerais (Figura 2) (MMA, 2022).

Figura 2 – Mapa dos biomas brasileiros.



Fonte: IBGE (2023).

A Caatinga possui uma vasta riqueza de espécies, tratando-se do bioma semiárido mais biodiverso do mundo. A sua biodiversidade é utilizada para inúmeras atividades econômicas voltadas especialmente no ramo farmacêutico, de cosméticos, químicos e alimentos (MMA, 2022). Porém, pela alta demanda e exploração de recursos, acabou se tornando o terceiro bioma mais degradado do Brasil (ALVAREZ & OLIVEIRA, 2013), com cerca de 80% de seus ecossistemas originais alterados, principalmente por meio de desmatamentos e queimadas (MMA, 2022).

Atualmente, a Caatinga possui em média 9% de seu território protegido em unidades de conservação federais e estaduais, onde apenas um pouco mais de 2% está inserida em área de proteção integral, como Parques Nacionais, Reservas Biológicas e Estações Ecológicas, sendo essas mais restritivas à intervenção humana (MMA, 2022). Das regiões já incluídas como área de proteção integral no Rio Grande do Norte, estão o Parque Nacional da Furna Feia e a Estação Ecológica do Seridó (CRISPIM, 2020).

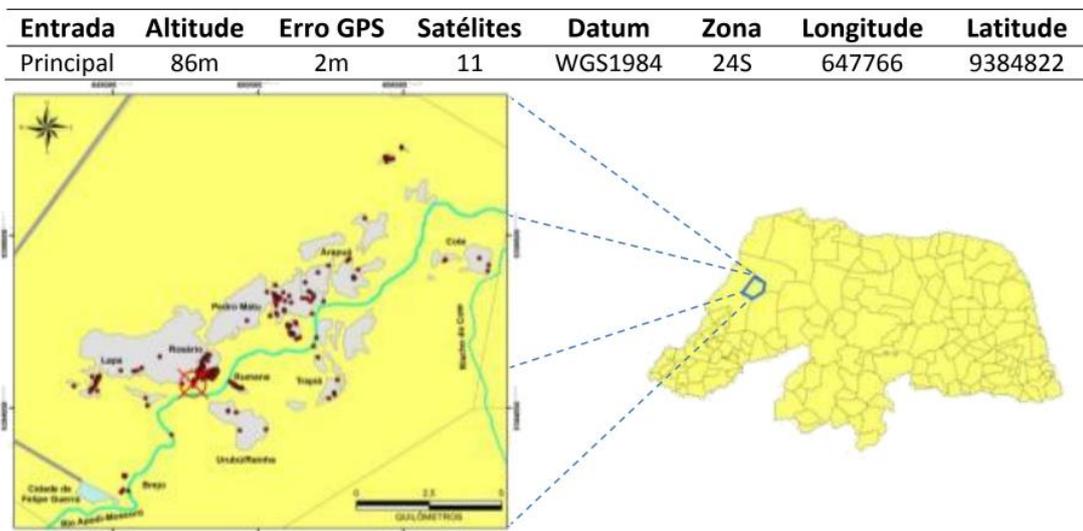
Algumas cavernas presentes na Caatinga são mais conhecidas e estudadas

que outras (OTÁLORA-ARDILA et al. 2020). No município de Felipe Guerra-RN, por exemplo, se encontram as cavernas Catedral, Abissal (uma das maiores da região), Crotes e Carrapateira, sendo todas incluídas em um plano de manejo para uma futura visitação turística e segura (ICMBio/CECAV, 2011).

### 2.1.2 Caverna Catedral

A caverna Catedral está localizada no Lajedo do Rosário, no município de Felipe Guerra - RN (Figura 3). Para ter acesso à entrada principal é preciso uma curta caminhada sobre o lajedo. O acesso se dá por um lance vertical, havendo ainda uma segunda opção de entrada pela claraboia (necessitando do uso de técnicas verticais), que dá acesso direto ao salão principal (Figura 4) (ICMBio/CECAV, 2011).

Figura 3 – Mapa topográfico da Caverna Catedral - RN.

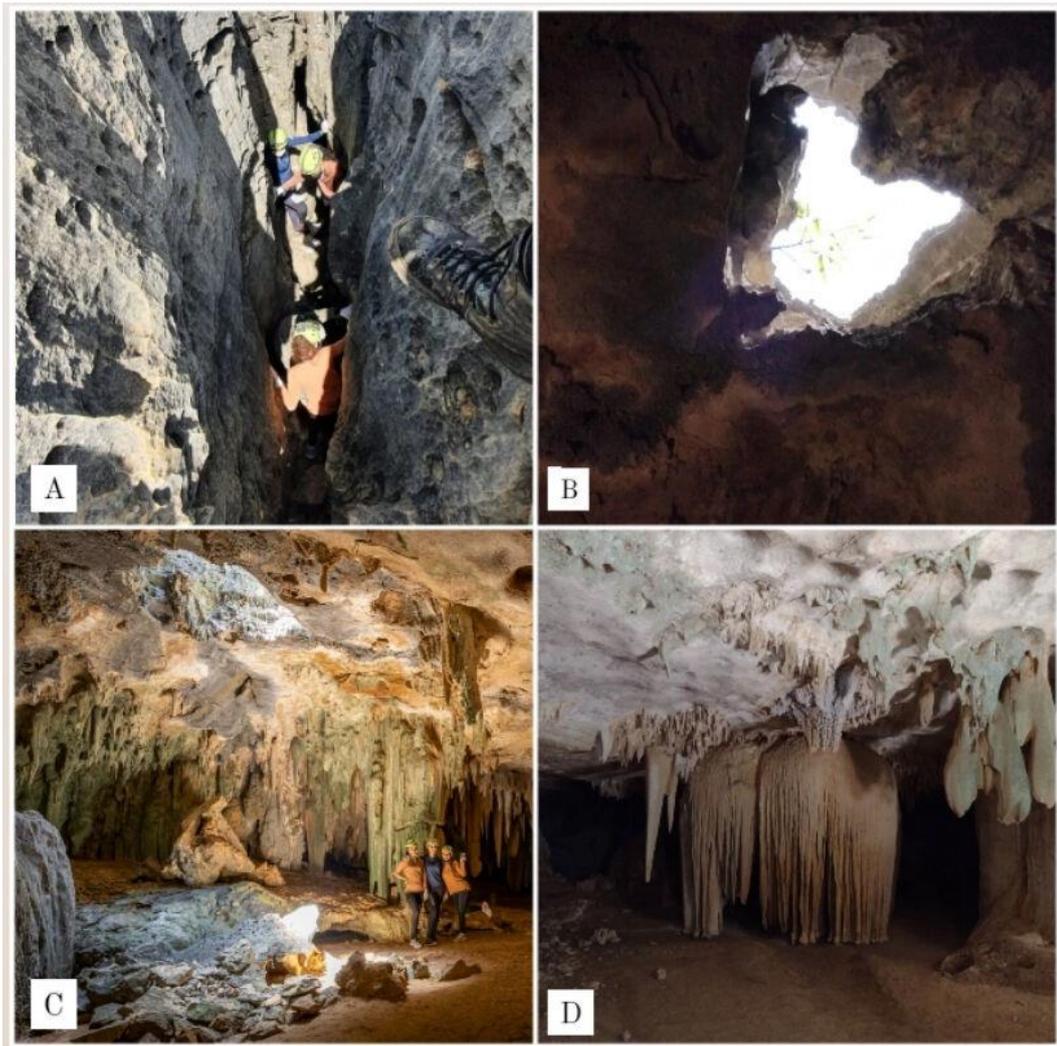


Fonte: ICMBio/CECAV (2011)

Suas galerias possuem padrão retilíneo, com algumas dificuldades internas como, lances verticais, tetos baixos e rastejamentos. Os solos são predominantemente argilosos com sedimentação, principalmente no nível inferior. O nome da caverna “Catedral” se dá pela sua ornamentação, que também é o principal atrativo da caverna (Figura 4). A cavidade é constituída por vários conjuntos de espeleotemas, entre eles, estalactites, cortinas, couve-flor e colunas

de porte métrico, além de estalagmites, travertinos e escorrimentos calcícticos de menor porte, sendo um dos principais conjuntos de espeleotemas do Estado do Rio Grande do Norte (ICMBio/CECAV, 2011).

Figura 4 – Caverna Catedral - RN, Brasil. A) Entrada principal com escalada pela fenda; B) Segunda entrada opcional (claraboia); C) Salão principal; D) Diferentes ornamentos na área mais interna.



Fonte: A autora (2021); Diego Bento (2021)

Seus recursos tróficos são em maior parte folhiços que se acumulam nas entradas da caverna, também possui acúmulos de guano de morcegos, além de carcaças de animais (ICMBio/CECAV, 2011). Bento (2011), registrou a ocorrência de 27 morfoespécies de invertebrados pertencentes a pelo menos 21 famílias. Entre os vertebrados há uma espécie de morcego frugívoro (*Artibeus planirostris*) e o registro de uma jiboia próximo à claraboia. A caverna já dispõe de algumas visitas,

porém se mantém conservada, pois seu conjunto de espeleotemas possui alta relevância (ICMBio/CECAV, 2011).

### **2.1.3 Biota cavernícola**

As cavernas possuem uma biota bem definida, com organismos endêmicos e transitórios, que exercem papéis fundamentais (ZAMPAULO, 2015). A especificidade do ecossistema cavernícola permite que esse local torne-se único para alguns organismos vivos que, em alguns casos, encontram-se tão especializados e dependentes deste habitat, que são incapazes de viver fora do mesmo (ZAMPAULO, 2010).

Uma grande variedade de táxons é registrada em ambientes cavernícolas, incluindo desde bactérias (LEMES, 2022), fungos (RAJI et al. 2019), grupos vegetais nas regiões próximas às entradas (ICMBio/CECAV, 2011), invertebrados (BENTO, 2011) e vertebrados (JESUS, 2017). Além disso, algumas cavernas servem de abrigo para colônias de morcegos, que podem se tornar permanentes e conseqüentemente, depositar pilhas de guano. Esse acúmulo de fezes é rico em nutrientes que ajudam a regular parte deste ecossistema, proporcionando, então, o desenvolvimento de outros organismos (SHETTY et al. 2013).

Os microrganismos colonizam as cavernas em um processo natural (TAYLOR et al. 2014). Eles podem habitar aleatoriamente, apenas se desenvolvendo em função da disponibilidade de matéria orgânica, ou como residentes, dependendo exclusivamente dos nutrientes que ali estão distribuídos (ENGEL, 2007). Além disso, também podem ser inseridos de forma involuntária por ação passiva das correntes de ar, ou ativa, através de outros seres vivos (ZAMPAULO, 2015).

Nos ambientes subterrâneos a colonização de fungos psicrófilos (desenvolvem-se em baixas temperaturas) e oligotróficos (desenvolvem-se em ambientes pobres de nutrientes) é favorecida devido ao seu microclima intenso (VANDERWOLF et al. 2013). Esses organismos ajudam na manutenção de alimento para as comunidades presentes da caverna (ZHANG, et al. 2017), na ciclagem de nutrientes (PORTER et al. 2009) e no controle de populações de alguns invertebrados (TAYLOR, 2013).

## 2.2 FUNGOS

Os fungos pertencem à linhagem dos opistocontes, são organismos eucariotos, heterotróficos, e encontrados sob dois tipos morfológicos, os leveduriformes (unicelulares) e os filamentosos (multicelulares) (BUCKLAY, 2008). Possuem parede celular composta principalmente por quitina e sua reserva energética é o glicogênio (BUCKLAY, 2008). Apresentam estratégias reprodutivas que garantem o sucesso do grupo, podendo realizar tanto a reprodução sexuada, assexuada, e em alguns casos, o ciclo parassexual como forma de recombinação genética (OLIVEIRA, 2014).

A distribuição geográfica dos fungos é ampla, pois estão presentes em praticamente todos os ecossistemas (BAJPAI et al. 2019). Cada grupo fúngico possui uma especificidade de condições para seu desenvolvimento (NASCIMENTO, 2010). São comumente associados a ambientes terrestres, porém, também podem ser encontrados nos mais variados substratos (PEAY et al. 2016), como alimentos (BARBOSA et al. 2018; LIMA et al. 2022), vegetais (NASCIMENTO et al. 2021), ambientes aquáticos (DETHOUP et al. 2018), hospitais (SOBRAL, 2020), em humanos (RODRIGUES et al. 2010), entre outros. Relatados também em cavernas, os fungos estão presentes em substratos como o ar, guano, corpo de morcegos e sedimento (CUNHA et al. 2020; PEREIRA et al. 2022; ALVES et al. 2022).

Dentre os filos pertencentes ao reino Fungi, o filo Ascomycota abriga a grande maioria das espécies descritas, possui espécies filamentosas macro e microscópicas, leveduras de grande importância, e espécies patogênicas de animais, plantas e seres humanos (SANTOS, 2015). Em sua reprodução sexuada, há a formação de esporos (ascósporos) em estruturas especializadas (ascos) que podem se encontrar dentro do ascoma (FORTUNA, 2020). Dentre os gêneros mais conhecidos desse filo, por possuir grande importância, estão *Aspergillus*, *Penicillium*, com cepas de grande potencial biotecnológico (ABREU et al. 2015) e patogênico (VANDERWOLF et al. 2013; RAWAT et al. 2017); *Candida*, com leveduras de grande relevância médica (VANDERWOLF et al. 2013; SILVA et al. 2014); *Histoplasma*, agente etiológico da Histoplasmose (VICENTINI et al. 2012; RAWAT et al. 2017); *Saccharomyces*, que inclui espécies de leveduras utilizadas na fabricação de alimentos e bebidas (PARAPOULI et al. 2020), entre outros. Basidiomycota é o segundo filo mais abundante, e inclui organismos simbiotes e

sapróbios, com grande parte macroscópica (COSTA, 2021). *Agaricus*, *Boletus* (BISANÇÃO et al. 2022) e *Amanita* (EBLING et al. 2020) são alguns dos gêneros mais conhecidos por sua importância.

Para o bioma Caatinga, os táxons representantes mais recorrentes, além de *Aspergillus* e *Penicillium*, são: *Alternaria*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Talaromyces*, *Trichoderma* (CAVALCANTI et al. 2006; BEZERRA, 2013; BEZERRA et al. 2017). São comumente encontrados associados com plantas (MELLO et al. 2012; BEZERRA, 2017; OLIVEIRA, 2019), como também isolados em solo (CAVALCANTI et al. 2006; SANTOS et al. 2020) e cavernas (ALVES et al. 2022).

Esses microrganismos possuem grandes contribuições para a indústria farmacêutica, na produção de insumos como os laticínios e bebidas alcoólicas, na produção de enzimas, entre outros, além de desempenhar papéis ecológicos, como fitopatógenos e biocontroladores (OLIVEIRA, 2014). Em um levantamento bibliográfico realizado por Abreu et al. (2015), os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, pertencentes ao filo Ascomycota, possuem destaque pela produção de metabólitos importantes utilizados em processos biotecnológicos.

Diversas espécies de fungos que já foram relatadas como produtoras enzimáticas, como, *Aspergillus niger*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium citrinum* (SOUZA & MAGALHÃES 2010; MESSIAS et al. 2011; LIMA et al. 2015), também foram relatados em cavernas, sendo isoladas do ar, sedimento (ALVES et al. 2022) e guano de morcegos (CUNHA et al. 2020). Além das espécies de *Aspergillus* (WEISS et al. 2020), outros táxons também possuem potencial enzimático, dentre eles, *Humicola grisea var. thermoidea* apresenta um eficiente sistema celulolítico (AZEVEDO et al. 1990), é conhecido por produzir celulases termoestáveis, por ser considerado um fungo termofílico (DE PAULA, 1999). *Alternaria* e *Cladosporium* também possuem espécies com potencial enzimático, podendo produzir diferentes enzimas (VALENZUELA et al. 2001).

Ogórek e colaboradores (2022), verificaram o potencial de espécies fúngicas queratinófilas e queratinolíticas isoladas de amostras de solo/sedimento de cavernas eslovacas, onde todas as culturas fúngicas identificadas pertenciam ao filo Ascomycota. Foram reportados a presença de 10 gêneros com espécies dependentes de queratina, sendo eles: *Aphanoascus*, *Arthroderma*, *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Cordyceps*, *Cosmospora*, *Keratinophyton*, *Metapochonia*,

### *Penicillium* e *Pseudogymnoascus*.

Além do viés biotecnológico, alguns fungos são conhecidos como causadores de doenças, responsáveis por processos alérgicos, inflamações, micoses superficiais e sistêmicas. Algumas espécies dos gêneros *Microascus* (SCHOEPLER et al. 2015) *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Candida* e *Histoplasma* encontradas no ambiente cavernícola, são agentes em diversos processos infecciosos ao homem (VANDERWOLF et al. 2013; RAWAT et al. 2017). Outro grupo muito encontrado nestes ambientes subterrâneos são os fungos fitopatogênicos, que incluem espécies de *Alternaria* (JURADO et al. 2021; ALVES, et al. 2022).

#### **2.2.1 Fungos Cavernícolas**

De acordo com Dobat (1967), o estudo mais antigo sobre fungos em cavernas foi realizado em 1794 por Humboldt. Desde então, diversos estudos foram realizados em solos, água, sedimento, rochas, ar, guano, corpo de morcegos, matéria orgânica e ectoparasitos de morcegos em cavernas (VANDERWOLF et al. 2013; JURADO et al. 2016; CUNHA et al. 2020; PEREIRA et al. 2022; CARVALHO et al. 2022; ALVES et al. 2022). E, segundo o ICMBio/CECAV (2022), a estimativa é que o número de estudos cresça cada vez mais, visto que, a diversidade presente neste ambiente é imensa e ainda pouco explorada.

A distribuição fúngica pode variar de acordo com as condições do ambiente cavernícola, como o fluxo de ar, água, umidade, luz e nutrientes disponíveis (NOVÁKOVÁ, 2009; PARK et al. 2020; HELD et al. 2020; CUNHA et al. 2020). Nesse ambiente, os fungos são componentes chave, pois participam na decomposição da matéria orgânica, mantendo assim a cadeia trófica desse ecossistema (VANDERWOLF et al. 2013; RAWAT et al. 2017).

Os fungos, além de se associarem com outros organismos (RAJI et al. 2019), podem modificar o ambiente ocasionando mudanças geológicas pela capacidade de deterioração de rochas minerais (BURFORD et al. 2003; EHRLICH & NEWMAN, 2009), como também na formação de espeleotemas como depósitos secundários de carbono de cálcio (BINDSCHEDLER et al. 2012). Segundo Vanderwolf e colaboradores (2013), os táxons fúngicos mais encontrados no

ambiente cavernícola pertencem aos filos Ascomycota, Basidiomycota e Zygomycota.

A microbiota cavernícola vem sendo estudada em diversos países como, Espanha (JURADO et al. 2016), França (BASTIAN et al. 2010), Botsuana (VISAGIE et al. 2021), Polônia (OGOREK et al. 2013), China (ZHANG et al. 2017), Estados Unidos (LORCH et al. 2012), Brasil (ALVES et al. 2022), entre outros. Apesar das diferentes condições dos ambientes, os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram isolados e relatados em todos os estudos citados. Porém, outros gêneros também são encontrados, como *Alternaria*, *Cladosporium* (ZHANG et al. 2017; ALVES et al. 2022), *Curvularia* (DUTRA, 2020), *Geomyces* (BASTIAN et al. 2010; LORCH et al. 2012), *Fusarium* e *Mucor* (JURADO et al. 2016; ZHANG et al. 2017).

Em um levantamento fúngico realizado por Zhang e colaboradores (2017), em cavernas na China, 20 novas espécies foram descritas. Dentre os novos táxons, alguns gêneros são raramente relatados em ambientes subterrâneos, como: *Amphichorda*, *Auxarthronopsis*, *Biscogniauxia*, *Cladorrhinum*, *Collariella*. Em contrapartida, novas descrições de espécies de gêneros mais comuns em cavernas como *Humicola*, *Microascus*, e *Scopulariopsis*, por exemplo, continuam sendo bastante relatadas (VANDERWOLF et al. 2013).

Analisando a microbiota da caverna Meu Rei localizada na Caatinga, em Pernambuco, Cunha et al. (2020) relatam que os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium* foram os mais predominantes em amostras do ar. Outros táxons também foram encontrados, como fungos entomopatogênicos e outros associados com plantas, além de leveduras isoladas do corpo de morcegos. Para o guano dos morcegos, *Aspergillus* e *Penicillium* também foram os gêneros mais relatados.

Alves et al. (2022), avaliando a riqueza fúngica, também em uma caverna na Caatinga, observaram que o filo Ascomycota mais uma vez foi predominante com 39 táxons, seguido por Basidiomycota com apenas dois táxons, *Sympodiomyces* em amostras do ar e *Tritirachium* em amostras do sedimento. Por outro lado, em um estudo realizado por Dutra (2020), isolados fúngicos presentes em diferentes substratos (ar, solo, rochas e guano) de uma caverna em Diamantina - MG, cerrado brasileiro, foram identificados por análises morfológicas e moleculares, resultando em um potencial novo gênero e duas novas espécies de *Cladosporium* e *Curvularia*.

Buscando entender a verdadeira origem dos fungos em cavernas, Zhang et al. (2018) sugeriram que esses microrganismos não possuem origem cavernícola, podendo ser advindos do ambiente externo, levando em conta as características dos ambientes hipógeo e epígeo. De acordo com os autores, os 20 isolados fúngicos (novas espécies) descritos em um estudo de 2017 (ZHANG et al. 2017), possuíam “registros” anteriores ao desenvolvimento da caverna. Sendo improvável que tais espécies descritas fossem classificadas como troglóbias.

### 2.2.2 Fungos no Sedimento

Segundo o Dicionário Caldas Aulete (2008, p. 899), sedimento é todo material suspenso no ar ou dissolvido em líquidos que se depositam em uma superfície. Os sedimentos presentes em cavernas são geralmente compostos por fragmentos minerais e rochas preexistentes que foram transportadas e acumuladas no ambiente subterrâneo (BRANDÃO et al. 2022). Boa parte da composição desse sedimento são grãos detríticos que sofreram erosão no ambiente epígeo e são levados para o ambiente hipógeo por agentes não seletivos (HADDAD-MARTIM et al., 2017). Sendo assim, o sedimento presente em cavernas pode apresentar em sua composição diferentes tipos de solos (VANDERWOLF et al. 2013), guano (CUNHA et al. 2020), restos de animais e resquícios folhosos (BENTO et al. 2011), propícios para o crescimento de microrganismos (TAYLOR et al., 2014).

Vanderwolf e colaboradores (2013), em uma revisão mundial de fungos em cavernas, observaram que o sedimento desses ambientes além de ser um dos substratos mais estudados, possui um grande percentual de material fúngico quando comparado aos demais, como parede e guano. Porém, segundo esses autores, ainda é incerto se esse é um padrão biológico para sedimento em cavernas, devido à grande variação de sua composição.

Ascomycota é o filo com espécies mais relatadas em amostras de sedimento de ambientes cavernícolas, dentre seus gêneros, são comumente encontrados, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Humicola* (NOVÁKOVÁ, 2009; IVO, 2021; AZADEH & SAFAIEFARAHANI, 2021), *Mucor*, *Fusarium*, *Alternaria* e *Trichoderma* (VANDERWOLF et al. 2013; JURADO et al. 2016). Segundo Dominguez-Moñino et

al. (2021), a presença de táxons pertencentes ao filo Ascomycota dentro do ambiente cavernícola está relacionada aos períodos de ventilação.

Visagie et al. (2021), avaliando a diversidade de *Aspergillus* no solo e guano de uma caverna na África, obtiveram cerca de 81 isolados, distribuídos em oito seções e 19 espécies. *Aspergillus okavangoensis* foi descrita como uma nova espécie, além disso, mais de 50% dos isolados foram identificados como *A. sydowii*. Fato semelhante, encontrado em outros estudos em cavernas (p. ex., Vanderwolf et al. 2013; Nováková et al. 2018; Cunha et al. 2020), confirmando então, que espécies de *Aspergillus* da seção *Versicolor* são isoladas com mais frequência no solo e guano (VISAGIE et al. 2021). Em um estudo pioneiro em análises da microbiota do solo e sedimento de uma caverna no Iran, Azadeh e Safaiefarahani (2021), isolaram uma grande variedade de espécies, dentre elas, cepas cosmopolitas e residentes comuns em cavernas, sendo *Aspergillus* o gênero de maior predominância.

Alguns agentes fúngicos que são mais encontrados no sedimento de cavernas, podem ser causadores de doenças em humanos. *Aspergillus* é o mais abundante e determinadas espécies desse gênero podem provocar aspergilose pulmonar ou cutânea, e alergias, assim como algumas espécies de *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, entre outras (OGÓREK et al. 2013).

Existe uma grande variedade de substratos em cavernas que têm sido avaliados quanto à presença fúngica. Pode-se dizer que isso se tornou mais comum depois da descoberta de agentes fúngicos com potencial patogênico a humanos, como o *Histoplasma capsulatum* (VANDERWOLF et al. 2013). Esta espécie é conhecida como causadora da histoplasmose, uma infecção provocada pela inalação dos seus conídios. No ambiente cavernícola, *H. capsulatum* pode estar associada ao guano de morcegos e ao solo (CURY et al. 2001).

Outra espécie patogênica encontrada em cavernas e que desperta bastante interesse dos pesquisadores é *Pseudogymnoascus destructans*, causadora da chamada White Nose Syndrome (WNS) em morcegos em período de hibernação (METEYER et al. 2009), conhecida em português como a síndrome do nariz branco. Essa doença ataca diretamente os morcegos, mais especificamente a região do nariz. O agente fúngico possui a habilidade de utilizar os morcegos vivos em hibernação como fonte de nutriente (VANDERWOLF et al. 2013). Lindner e colaboradores (2011), buscando isolar a espécie *P. destructans* em amostras de solo de hibernáculo no leste dos Estados Unidos, obtiveram apenas amplificação

do DNA de espécies putativas do gênero, podendo compartilhar a mesma ação patogênica da espécie principal. Os clones com sequência exata de *P. destructans* foram identificados em três das 19 amostras de solo coletadas, destacando a diversidade de *Pseudogymnoascus putativos* spp. em solo de hibernáculo de morcegos.

Mesmo com pesquisas recentes acerca da microbiota cavernícola na Caatinga (PEREIRA et al. 2022; CARVALHO et al. 2022; ALVES et al. 2022), o conhecimento ainda é incipiente quando comparado com a diversidade de cavernas que existem para esse bioma brasileiro (CUNHA et al. 2020), principalmente para substratos como o sedimento. Neste contexto, é consenso entre os pesquisadores de todo o mundo a importância de se conhecer a diversidade dos fungos nos países tropicais e subtropicais, onde encontra-se um grande número das espécies ainda desconhecidas pela ciência (HAWKSWORTH, 2011; RINALDI et al. 2008).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Isolar e caracterizar morfológica e filogeneticamente fungos presentes no sedimento (solo e guano de morcego) da Caverna Catedral - RN, Brasil, e detectar, ainda, a presença de fungos potencialmente patogênicos para os seres humanos.

#### **3.2 Específicos**

- Avaliar as relações filogenéticas das espécies isoladas dentro de seus respectivos grupos taxonômicos;
- Conhecer a riqueza e abundância fúngica das amostras de sedimentos coletadas;
- Auxiliar o conhecimento sobre a microbiota fúngica presente na Caverna Catedral para a contribuição e elaboração de planos de gestão de visitação segura desses ambientes.

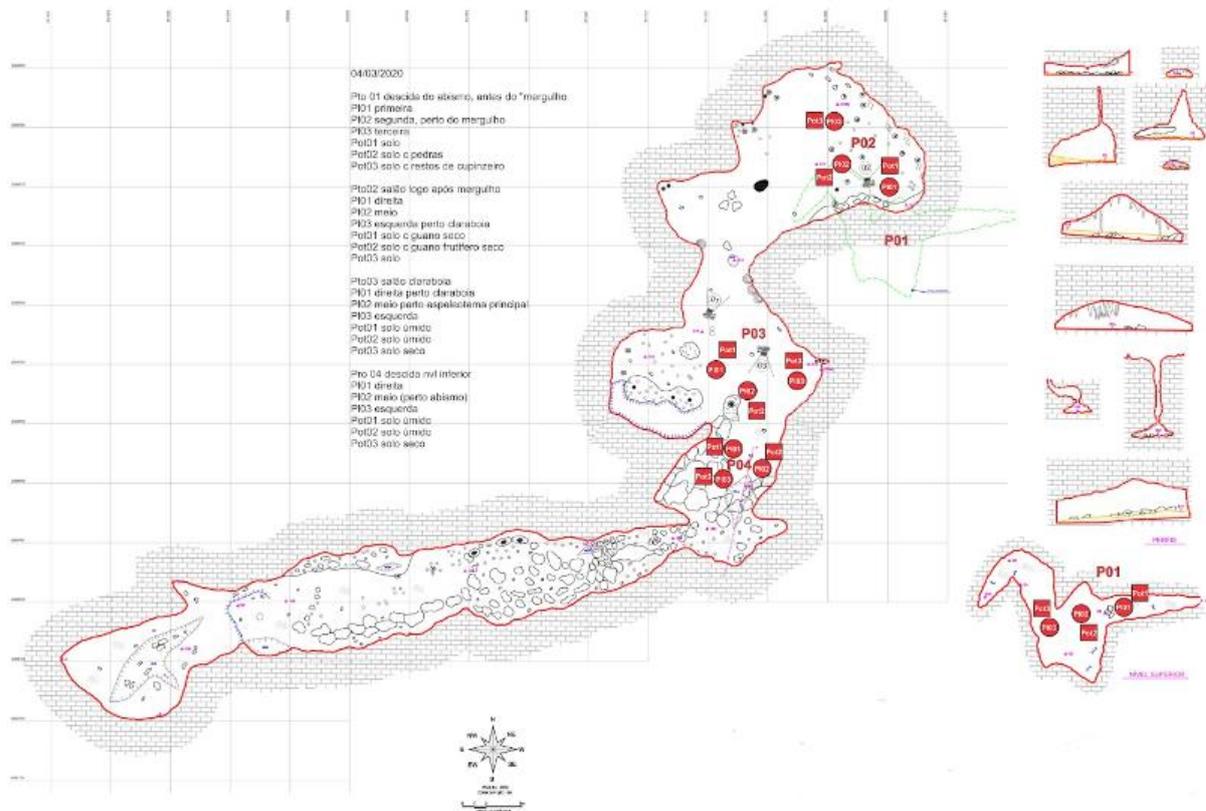
## **4. MATERIAS E MÉTODOS**

### **4.1 ÁREA DE ESTUDO**

A caverna Cathedral está localizada no município de Felipe Guerra, estado do Rio Grande do Norte, Brasil e faz parte do domínio da Caatinga, considerada o bioma semiárido mais biodiverso do mundo (MMA, 2022). Sua formação é calcária, possui entrada principal dada através de uma descida vertical, apresenta altitude de 86m, longitude – 647766 e latitude – 9384822 (ICMBio/CECAV, 2011).

A coleta foi realizada no dia 04 de março de 2020, foram coletadas amostras de sedimentos em quatro diferentes pontos da caverna. Sendo o ponto um foi na entrada principal, o ponto dois na zona de transição entre a entrada principal e o salão, ponto três no salão principal (possui uma claraboia) e o ponto quatro em uma região mais interna da caverna (Figura 5). As autorizações para coleta do respectivo projeto foram aprovadas pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), através do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) do Ministério do Meio Ambiente (MMA). Código de autenticação da autorização: 0703050120190826.

Figura 5 – Mapa com os pontos de coleta da caverna Cathedral-RN.

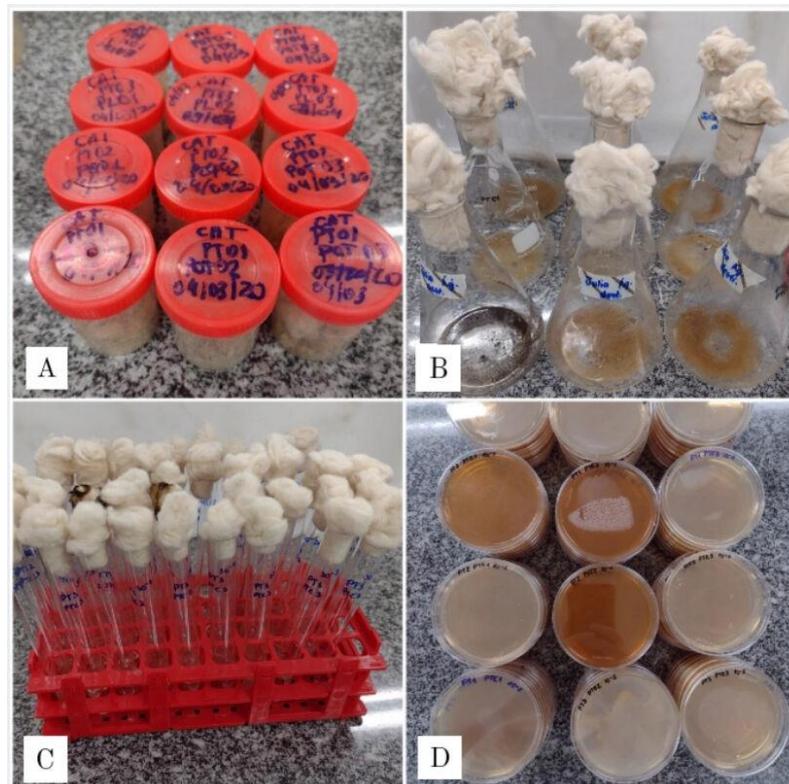


Fonte: CECAV (2020)

## 4.2 ISOLAMENTO DOS FUNGOS

As amostras do sedimento (cerca de 10 g) foram coletadas e acondicionadas em recipientes esterilizados para processamento em laboratório. Todas as amostras foram coletadas em triplicata (Figura 6). Para o isolamento dos fungos, 1 g de sedimento foi suspenso em 9 mL de água destilada esterilizada e agitado por 20 min a 100 rpm e, em seguida, foram realizadas diluições seriadas até  $10^{-4}$ . Das suspensões  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ , foi retirado 1 mL e realizado plaqueamento direto na superfície dos meios Infusão Cérebro-coração (BHI) e Ágar Sabourad Dextrose (SAB) (KING et al. 1979), contidos em placas de Petri (Figura 6), e incubadas a 25 °C, por até 14 dias, no escuro. Após o crescimento, as colônias foram purificadas em tubos de ensaio contendo SAB. Após a incubação, o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs)  $g^{-1}$  de sedimento foram calculadas como médias das réplicas (RICHARDSON, 2008; OGOREK et al. 2016).

Figura 6 – Processo de isolamento dos fungos da Caverna Cathedral/RN.  
 A= Amostras de sedimento. B e C= Diluições das amostras.  
 D= Plaqueamento nos meios BHI e SAB.



Fonte: A autora (2022)

Também foi realizado o método de câmara úmida, 2 g de cada amostra de sedimento foram colocadas em placas de Petri sobre papel de filtro umedecido com água esterilizada e incubadas até o crescimento dos fungos (Figura 7) (RICHARDSON, 2008; OGOREK et al. 2016).

Figura 7 – Amostras de sedimento da Caverna Cathedral para isolamento dos fungos em câmara úmida.



Fonte: A autora (2022)

### 4.3 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS FUNGOS

Para análise das características morfológicas das culturas, os isolados foram inoculados nos meios: ágar extrato de levedura Czapek (CYA), ágar extrato de malte (MEA) (BARBOSA et al. 2018), batata dextrose ágar (BDA) e ágar sintético deficiente em nutrientes (SNA) (ZHANG et al. 2017). Nas análises macroscópicas, foi observado o aspecto, superfície, cores do anverso e reverso da colônia. E para as análises das características microscópicas, observadas em microscopia óptica, foi observado as estruturas somáticas e reprodutivas do fungo, para identificação das espécies.

As imagens foram capturadas utilizando o microscópio Nikon Eclipse Ni, equipamento com Câmera Nikon DS-Fi2, usando NISElements. O software AR v. 4.20 e as fotos passaram posteriormente por edições.

### 4.4 OBTENÇÃO DO MICÉLIO PARA EXTRAÇÃO DO rDNA

A biomassa dos isolados foi obtida a partir do cultivo em BHI e SAB contido em placa de Petri, mantidos a 25 °C por até sete dias, para obtenção do micélio jovem. Este micélio foi transferido para microtubos de 2 mL com tampa de rosca, acrescidos de quatro esferas de vidro com 3 mm de diâmetro e 600 µL da solução *Nuclei Lysis Solution* do *Kit* de extração de DNA genômico da Promega (Wizard Genomic DNA Purification Kit) e os passos seguintes foram realizados de acordo com o protocolo do fabricante do Kit.

### 4.5 PCR E SENQUENCIAMENTO

As extrações e amplificações de fragmentos do DNA foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Micoteca URM do Departamento de Micologia, Centro de Biociências, UFPE.

Para as análises moleculares foram utilizadas as regiões:  $\beta$ -tubulina (BenA), calmodulina (CmdA), regiões espaçadoras transcritas internas e interveniente 5.8S rRNA (ITS), subunidade grande (LSU) e rDNA, RNA segunda maior subunidade da polimerase II (RPB2), foram amplificados usando os pares de primers Bt2a e Bt2b (Vidro & Donaldson 1995), CMD5 e CMD6 (Hong et al. 2006), ITS1 e ITS4 (White et

al. 1990), LR0R e LR5 (Vilgalys & Hester 1990), rpb2-5F2 e frpb2-7cR (Liu et al. 1999, Sung et al. 2007).

#### 4.6 ALINHAMENTO DAS SEQUÊNCIAS E ANÁLISE FILOGENÉTICA

As sequências de nucleotídeos das amostras foram editadas no programa Bio Edit e as sequências consensuais comparadas no banco de dados do GenBank – NCBI utilizando o programa Mega BLAST. As sequências obtidas foram adicionadas ao conjunto de sequências de espécies similares obtidas no Genbank e alinhadas usando a ferramenta online MAFFT v.7 (KATOH et al. 2013) e editadas manualmente usando MEGA v.7 (KUMAR et al. 2016). As novas sequências foram depositadas no GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Inicialmente, cada alinhamento, juntamente com o conjunto de dados combinado, foi analisado com base na análise de máxima verossimilhança (ML) usando RAXMLHPC BlackBox v. 8.2.12 (STAMATAKIS et al. 2014) no CIPRES Science Gateway (MILLER et al., 2010). Mais tarde, os conjuntos de dados combinados foram analisados com base na análise de inferência Bayesiana (BI) realizada usando MrBayes v. 3.2.7a (RONQUIST et al. 2012) com XSEDE no CIPRES Science Gateway. A análise BI foi realizada com  $1 \times 10^6$  gerações e um valor de queima de 25%, com cadeias amostradas a cada 1.000 gerações e análise de ML com 1.000 bootstraps. O melhor modelo de nucleotídeo para análise de BI foi estimado usando o software MrModelTest v. 2.3 (NYLANDER, 2004), e o GTR + O modelo I + G foi usado para todas as análises de ML. As árvores filogenéticas foram visualizadas usando o software FigTree (RAMBAUT, 2010). Valores  $\geq 0,95$  BI probabilidade posterior (BPP) e 70% de suporte de bootstrap ML (MLBS) foram mostrados perto de nós.

## 5. RESULTADO

### 5.1 ABUNDÂNCIA DE FUNGOS

A abundância dos fungos encontrados no sedimento da caverna Catedral foi estipulada com base no número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de cada ponto coletado (Tabela 1).

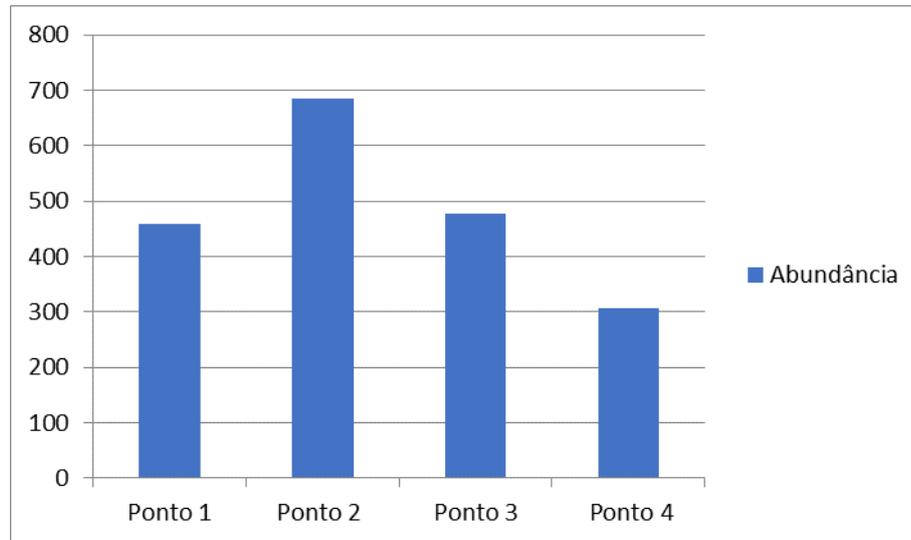
**Tabela 1** – Unidades Formadoras de Colônias (UFC) dos fungos do sedimento da caverna Catedral - RN.

	Ponto 1 (UFC)		Ponto2 (UFC)		Ponto 3 (UFC)		Ponto 4 (UFC)	
Pote 1	SAB	BHI	SAB	BHI	SAB	BHI	SAB	BHI
$10^{-2}$	+100	+100	22	11	06	19	23	46
$10^{-3}$	08	11	05	07	04	07	04	09
$10^{-4}$	02	08	04	09	0	02	02	02
Pote 2	SAB	BHI	SAB	BHI	SAB	BHI	SAB	BHI
$10^{-2}$	14	08	+100	+100	+100	21	69	+100
$10^{-3}$	07	06	+100	+100	07	13	11	27
$10^{-4}$	0	02	+100	+100	04	03	0	04
Pote 3	SAB	BHI	SAB	BHI	SAB	BHI	SAB	BHI
$10^{-2}$	+100	01	12	10	+100	+100	0	0
$10^{-3}$	29	47	04	0	33	38	0	07
$10^{-4}$	05	10	0	0	06	14	0	03
<b>TOTAL</b>	<b>265</b>	<b>193</b>	<b>347</b>	<b>337</b>	<b>260</b>	<b>217</b>	<b>109</b>	<b>198</b>

Fonte: A autora (2023)

O número de UFCs variou entre os quatro pontos estudados. Foram contabilizadas 1.929 UFCs, sendo o ponto 2 o detentor da maior abundância com 684 UFCs. Os pontos 1 e 3 apresentaram valores próximos e o ponto 4 apresentou o menor número com apenas 310 UFCs (Gráfico 1). Com isso, foram isolados 62 fungos com morfologias aparentemente distintas, destes, 43 foram identificados.

**Gráfico 1** – Abundância dos fungos do sedimento da caverna Catedral - RN.

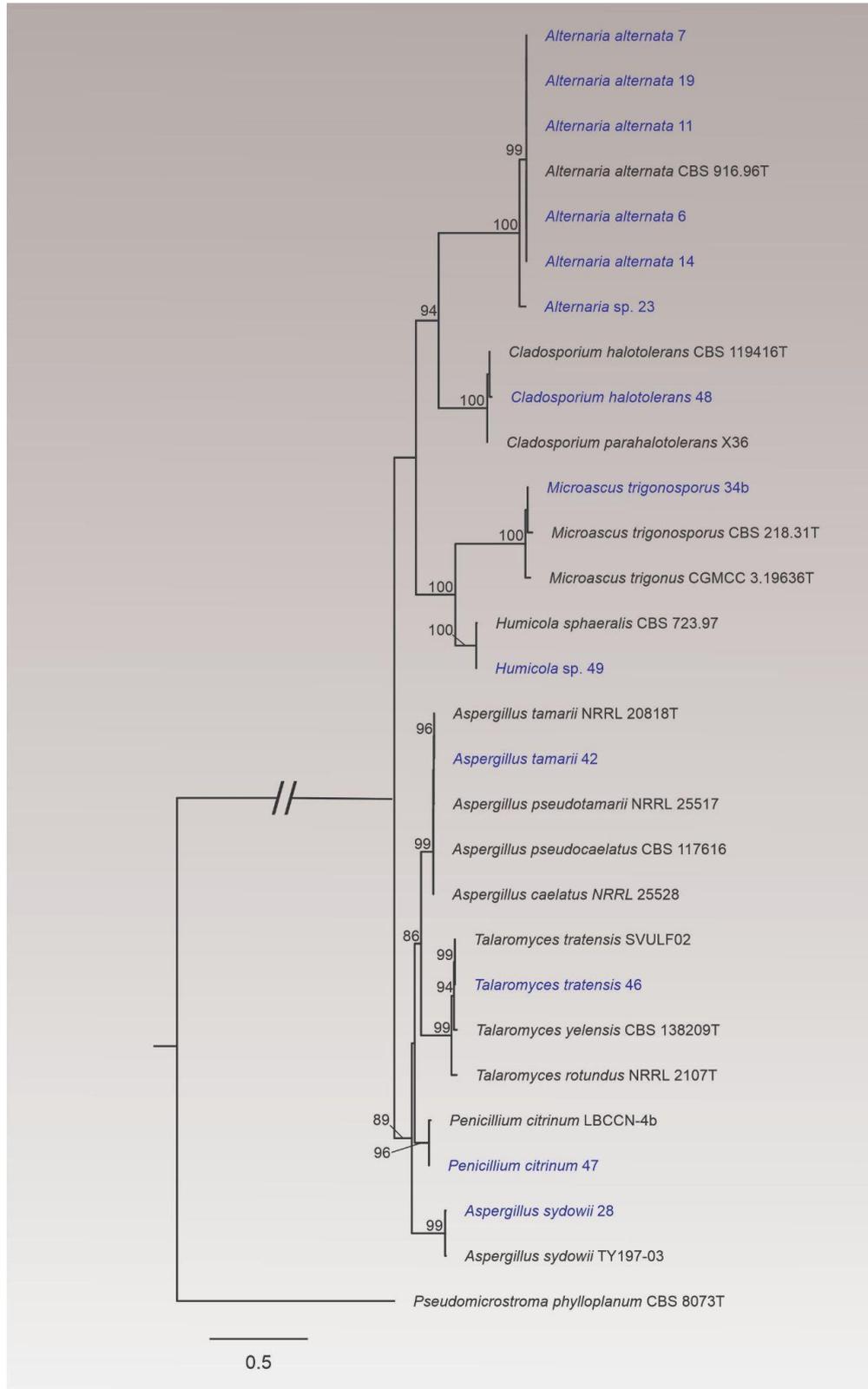


Fonte: A autora (2023)

## 5.2 RIQUEZA DOS FUNGOS

De acordo com análises morfológicas e filogenéticas das sequências de DNA, os 43 isolados foram identificados e reunidos em 12 gêneros pertencentes ao filo Ascomycota. As sequências de DNA obtidas da região ITS do rDNA dos fungos foram utilizadas para reconhecimento e posicionamento filogenético de algumas espécies (Figura 8), também foram utilizados outros primers específicos para determinados gêneros (p. ex.,  $\beta$ -tubulina, Calmodulina, LSU e RPB2).

Figura 8 – Árvore de máxima verossimilhança obtida utilizando sequências de ITS do rDNA de alguns representantes dos fungos da caverna Catedral - RN, Brasil. Valores de suporte maiores que 85% são mostrados próximos dos nós. *Rhodotorula phylloplana* CBS 8073T foi utilizado como grupo externo. Os isolados obtidos neste estudo estão representados na cor azul e as espécies tipo com o T.



Fonte: A autora (2023)

Posteriormente às análises filogenéticas, foram encontradas 26 espécies dos 43 fungos identificados (Tabela 2). O ponto 2 apresentou maior riqueza com 15 táxons, seguido do ponto 3 (13 táxons), ponto 1 (11 táxons) e ponto 4 (5 táxons) (Gráfico 2).

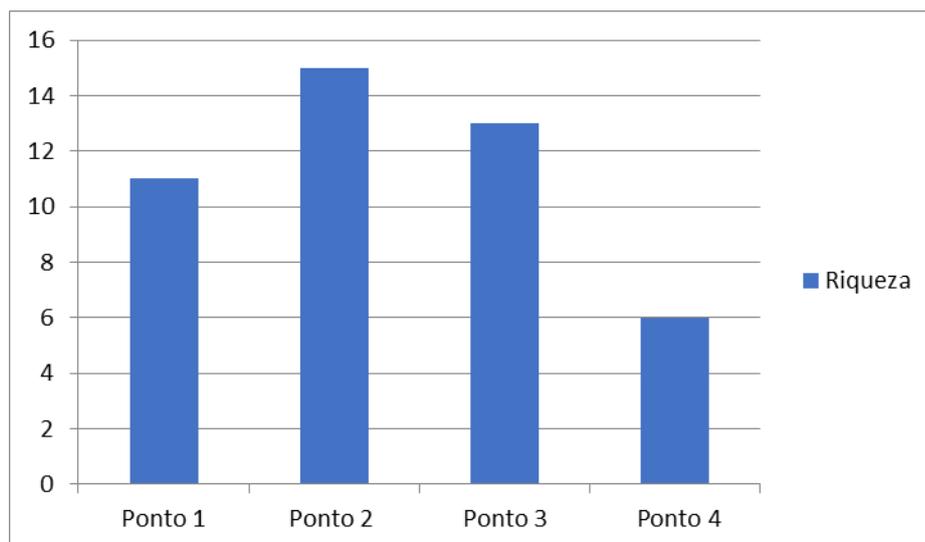
**Tabela 2** – Riqueza das espécies de fungos filamentosos provenientes do sedimento de cada ponto da caverna Catedral, RN, Brasil. Onde (\*) = presença e (-) = ausência.

<b>Espécies</b>	<b>Ponto 1</b>	<b>Ponto2</b>	<b>Ponto 3</b>	<b>Ponto 4</b>	<b>Total</b>
<i>Acremonium sp.</i>	*	-	-	-	<b>1</b>
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	*	-	*	*	<b>3</b>
<i>Alternaria jacinthicola</i> Dagno e MH. Jijakli.	*	*	*	*	<b>4</b>
<i>Alternaria sp.1</i>	*	-	*	-	<b>2</b>
<i>Alternaria sp.2</i>	*	-	-	-	<b>1</b>
<i>Alternaria sp.3</i>	*	-	-	*	<b>2</b>
<i>Aspergillus hongkongensis</i> CC Tsang et al.	-	*	*	-	<b>2</b>
<i>Aspergillus micronesiensis</i> Visagie et al.	-	*	*	-	<b>2</b>
<i>Aspergillus movilensis</i> A. Nováková et al.	-	*	-	-	<b>1</b>
<i>Aspergillus olivimuriae</i> Crognale e SW Peterson.	*	-	*	*	<b>2</b>
<i>Aspergillus suttoniae</i> JPZ Siqueira et al.	-	*	*	-	<b>1</b>
<i>Aspergillus sydowii</i> (Bainier e Sartory) Thom e Crurch.	*	*	*	-	<b>3</b>
<i>Aspergillus tamari</i> Kita.	-	*	-	-	<b>1</b>
<i>Aspergillus welwitschiae</i> (Bres) Henn.	-	-	-	*	<b>1</b>
<i>Aspergillus sp.</i>	-	*	-	-	<b>1</b>
<i>Cladosporium halotolerans</i> Zalar, de Hoog e Gunde-Cim.	-	*	-	-	<b>1</b>
<i>Curvularia sp.</i>	-	-	*	*	<b>1</b>
<i>Didymella sp.</i>	-	-	*	-	<b>1</b>
<i>Humicola sp.</i>	*	-	*	-	<b>1</b>

<i>Microascus trigonosporus</i> GF Orr.	-	*	-	-	1
<i>Penicillium citrinum</i> Thom.	-	*	-	-	1
<i>Penicillium</i> sp.	-	*	*	-	2
<i>Phaeosphaeria</i> sp.	*	-	-	-	1
<i>Talaromyces pinophilus</i> (Hedgc.) Samson et al.	*	*	*	-	3
<i>Talaromyces tratensis</i> Manoch et al.	-	*	-	-	1
<i>Wardomyopsis</i> sp.	-	*	-	-	1
Total	11	15	13	06	41

Fonte: A autora (2023)

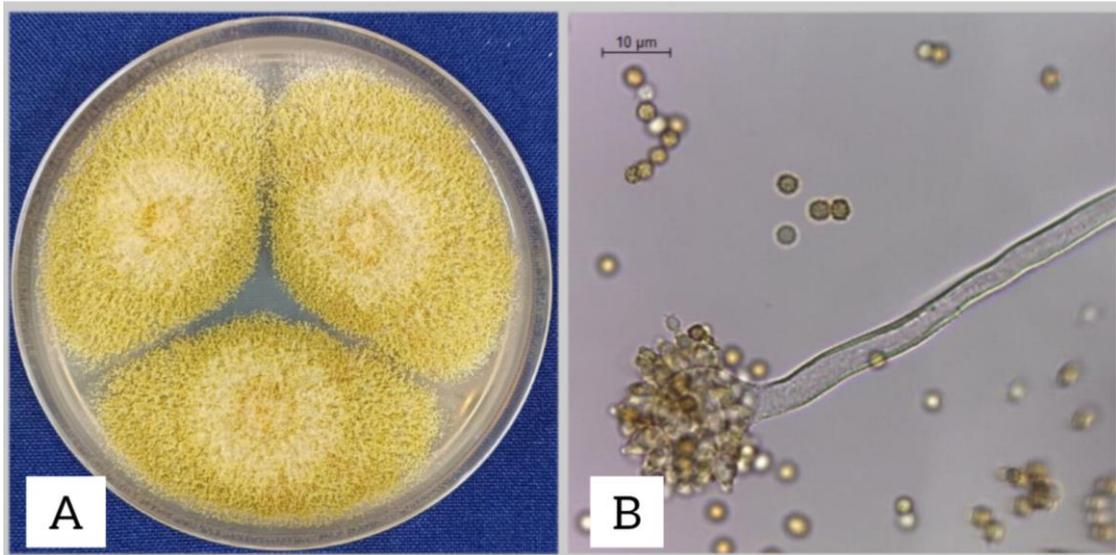
**Gráfico 2** – Riqueza dos fungos do sedimento da caverna Catedral – RN.



Fonte: A autora (2023)

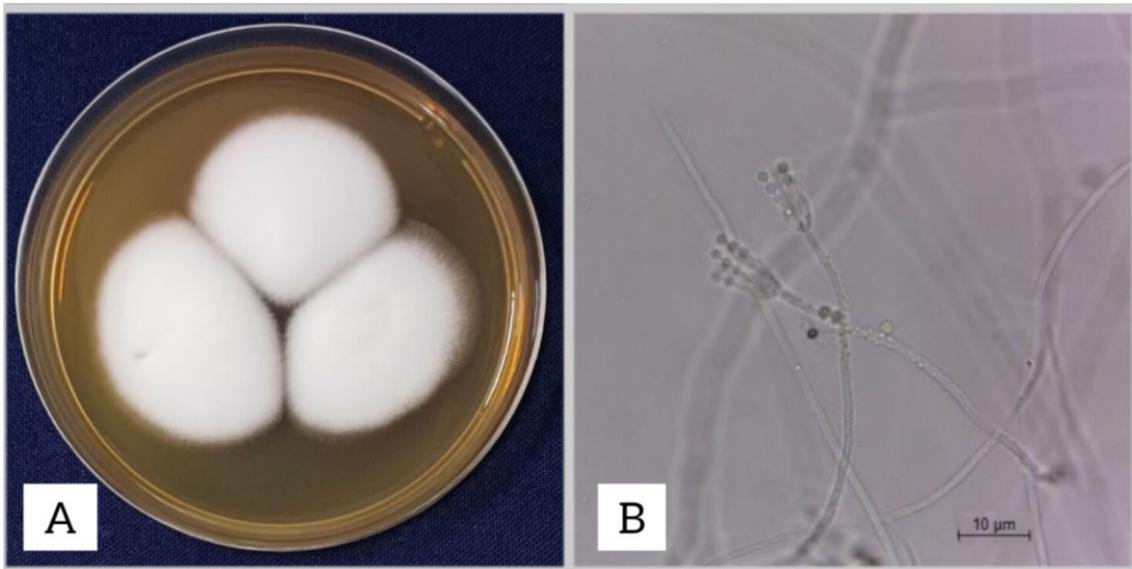
O gênero *Aspergillus* (Figura 9) foi o mais representativo do filo Ascomycota com nove espécies, estando presente em todos os pontos amostrais, o que pode ser explicado por sua capacidade de adaptação em diferentes ambientes e tipos de substratos. Em seguida, o gênero *Alternaria* foi bem representativo com cinco espécies, também presentes nos quatro pontos. Para *Penicillium* (Figura 10) e *Talaromyces* (Figura 11), apenas duas espécies de cada gênero foram identificadas. Além dos gêneros citados, foram encontrados representantes únicos de *Acremonium* (Figura 12), *Curvularia*, *Cladosporium*, *Didymella*, *Microascus*, *Phaeosphaeria* (Figura 13) e *Wardomyopsis* (Figura 14).

Figura 9 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: conidióforo e conídios (B), de um isolado representativo do gênero *Aspergillus* cultivado em MEA por sete dias a 25 °C.



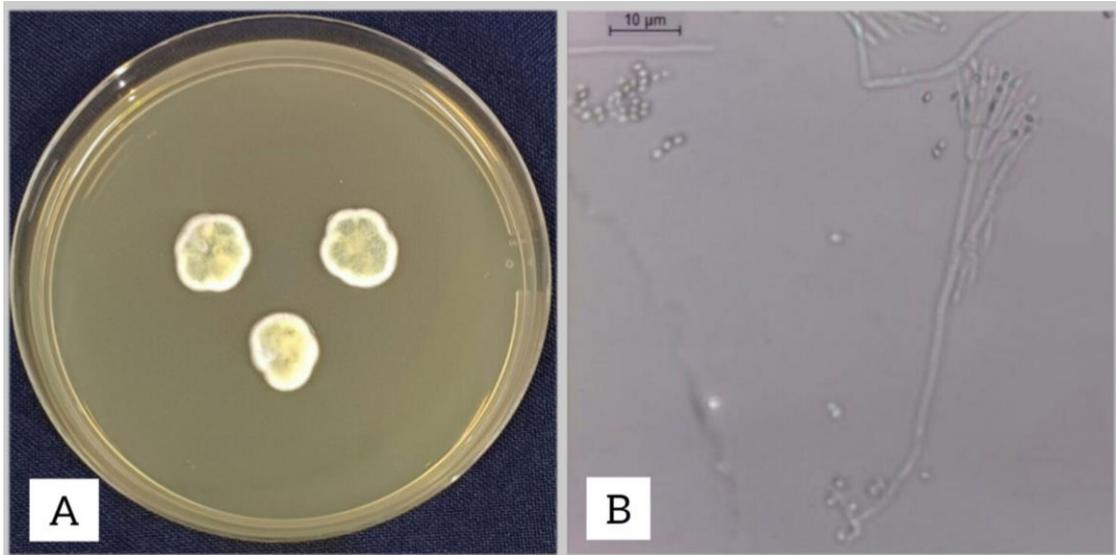
Fonte: A autora (2023)

Figura 10 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: conidióforos com conídios em cadeia (B), de um dos isolados do gênero *Penicillium* cultivado em MEA por sete dias a 25 °C.



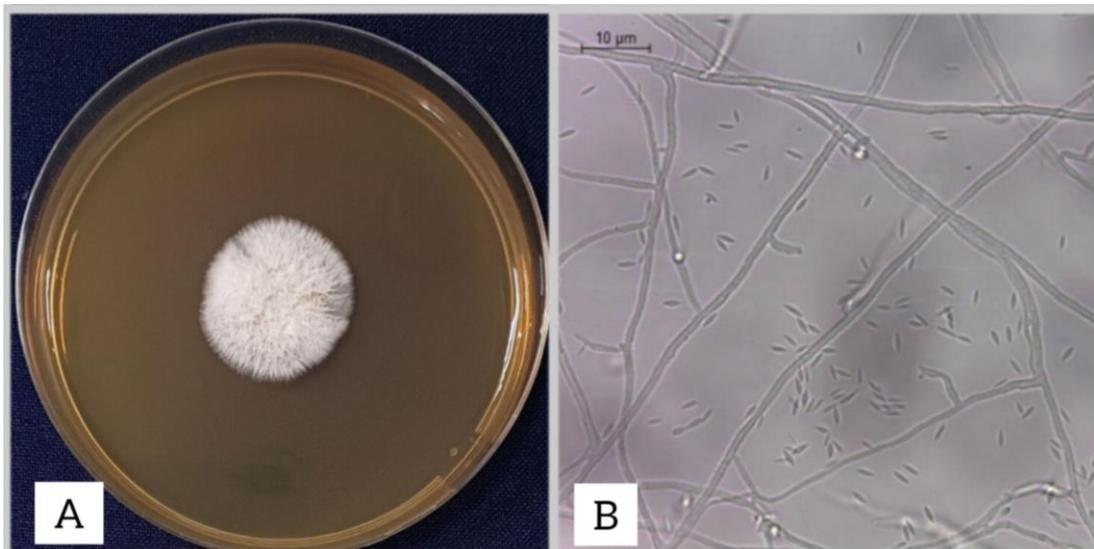
Fonte: A autora (2023)

Figura 11 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: conidióforo e conídios (B) de um dos isolados do gênero *Talaromyces* cultivado em CYA por sete dias a 25 °C.



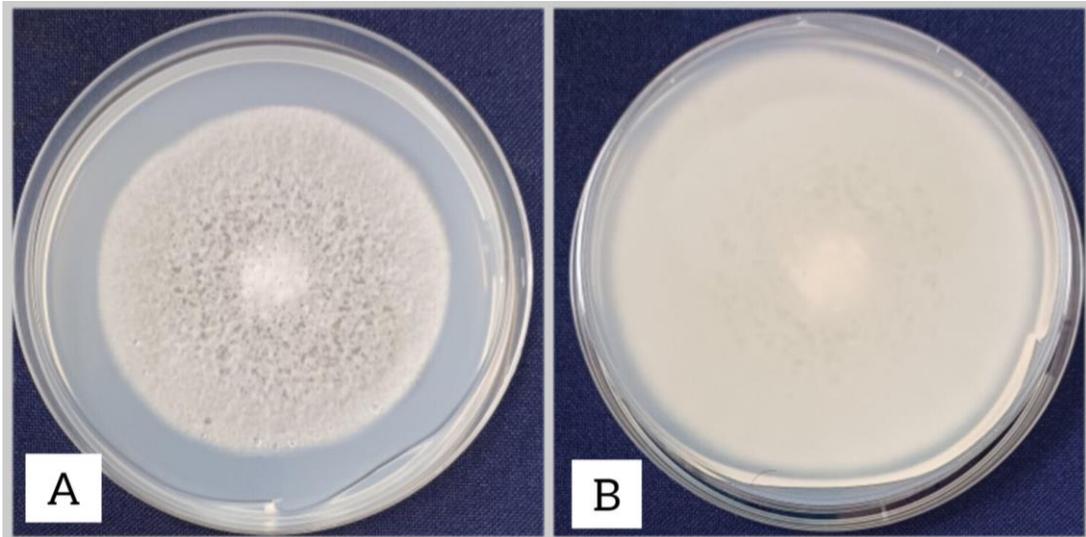
Fonte: A autora (2023)

Figura 12 – Morfologia macroscópica: verso (A) e microscópica: Hifas e conídios (B) de um dos isolados do gênero *Acremonium* cultivado em MEA por 14 dias a 25 °C.



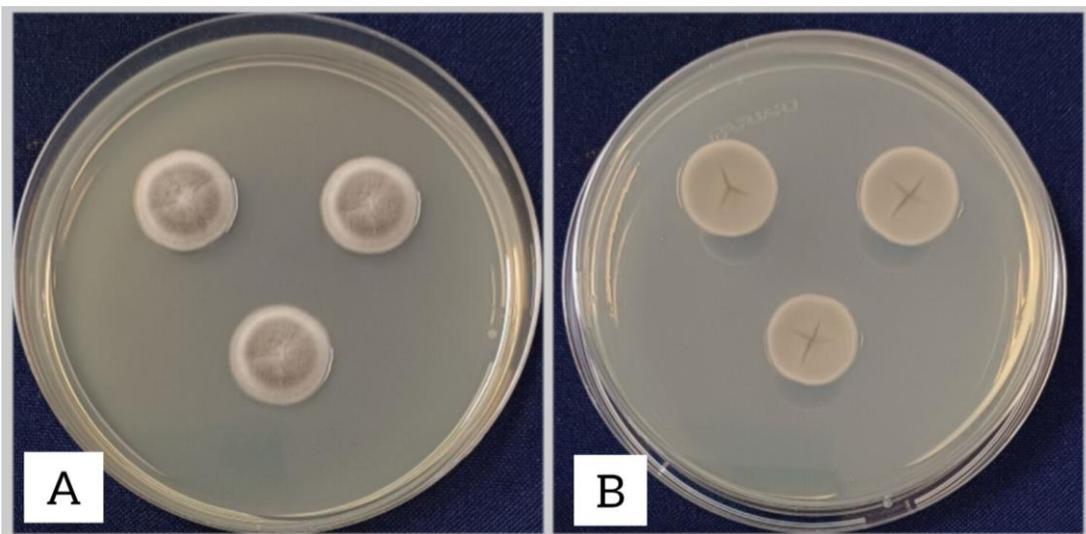
Fonte: A autora (2023)

Figura 13 – Morfologia macroscópica: verso (A) e reverso (B) de um dos isolados do gênero *Phaeosphaeria* cultivado em SNA por 14 a 25°C.



Fonte: A autora (2023)

Figura 14 – Morfologia macroscópica: verso (A) e reverso (B) de um dos isolados do gênero *Wardomyces* cultivado em SNA por 14 a 25 °C.



Fonte: A autora (2023)

## 6. DISCUSSÃO

Estudos sobre a micobiota cavernícola brasileira ainda são escassos, quando comparados com a grande diversidade de cavernas que existem no país (CUNHA et al., 2020; BERNARD et al. 2022; MMA, 2023). A caverna Catedral, localizada no Nordeste brasileiro, apresentou ampla abundância de fungos presentes no sedimento. Pesquisas recentes (p. ex., Leão, 2021; Alves et al. 2022), também obtiveram valores significativos de fungos encontrados no sedimento de cavernas no bioma Caatinga.

Foram contabilizados mais de 1.900 UFCs nos pontos de coleta. Alves e colaboradores (2022), avaliando a micobiota da caverna Abrigo do Letreiro, também do estado do Rio Grande do Norte, encontraram cerca de 3.000 UFCs nas amostras de sedimento analisadas, incluindo leveduras e fungos filamentosos. Por outro lado, Pereira e colaboradores (2021), encontraram 620 UFCs no guano de morcegos insetívoros em uma caverna em Pernambuco, e um total de 16 táxons foram identificados para este substrato.

O ponto 2 foi o detentor da maior abundância de fungos encontrada, localizado no ambiente da caverna com pouca influência do meio externo. Já o ponto 4, apresentou menor abundância, estando localizado na parte mais interna da caverna, distante do salão e da entrada principal. Dados semelhantes foram obtidos por Alves et al. (2022), onde a maior abundância de fungos do sedimento foi encontrada no ponto com baixa influência do meio externo.

A riqueza de táxons também foi mais representativa no ponto 2 (15 táxons), resultado que pode estar associado com a pequena influência do meio externo, mesmo que mínima. Vários fatores, como correntes de ar, visitas, animais (p. ex., morcegos) que transitam na caverna, podem atuar na dispersão desses microrganismos no ambiente subterrâneo (VANDERWOLF et al. 2013; GABRIEL & Northup 2013; ZAMPAULO et al. 2015). Por outro lado, a menor riqueza fúngica foi encontrada no ponto 4, onde não há influência com o meio externo. Resultados divergentes foram obtidos em um estudo de uma caverna no estado da Bahia, onde a riqueza de fungos no solo foi maior na região crepuscular da caverna (PAULA et al. 2016).

Dentre os 12 gêneros identificados, *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Humicola*, *Penicillium* e *Talaromyces* já foram relatados em

ambientes cavernícolas VANDERWOLF et al. 2013). Em um estudo de fungos filamentosos isolados de diferentes tipos de sedimentos de uma caverna de minério de ferro no Brasil, Taylor e colaboradores (2014), relataram a presença dos gêneros *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Penicillium*. Gêneros estes considerados mais frequentes em cavernas (VANDERWOLF et al. 2013; CUNHA et al. 2020; PEREIRA et al. 2021; CARVALHO et al. 2022; ALVES et al. 2022).

O gênero *Aspergillus* foi o mais representativo do filo Ascomycota, estando presente em todos os pontos amostrais da caverna Catedral. Tal gênero é o mais presente no ambiente cavernícola (KOKUREWICZ et al. 2016; ZHANG et al. 2017; PEREIRA et al. 2022). Espécies desse gênero são relatadas em diversos estudos realizados tanto em cavernas tropicais como subtropicais e também em países europeus (VANDERWOLF et al., 2013). No Brasil, as espécies de *Aspergillus* encontradas em cavernas são mais abundantes em amostras do ar (TAYLOR et al. 2013; CUNHA et al. 2020), mas também são relatadas em outros diferentes substratos como solo, guano, sedimento, no corpo de morcegos e de alguns ectoparasitas (VANDERWOLF et al. 2013; JURADO et al. 2016; PAULA et al, 2016; PEREIRA et al. 2022; CARVALHO et al. 2022; ALVES et al. 2022).

A aspergilose é a infecção sistêmica mais comum causada por fungos filamentosos, tendo como principal agente etiológico *Aspergillus fumigatus*, considerado responsável pelo segundo maior número de infecções humanas por fungos (PFALLER et al. 2006; ARASTEHFAR et al. 2021). A apresentação clínica da doença é estabelecida pela interação do parasita e o hospedeiro, possuindo diferentes níveis de infecção (WARRIS et al. 2014; DÜMIG et al. 2021). Nove espécies foram identificadas para o gênero *Aspergillus* em amostras de sedimento da caverna Catedral, sendo algumas já relatadas como causadoras da aspergilose (p. ex., *Aspergillus sydowii*) (NAGARAJAN et al. 2014; VEDOVA et al. 2019). Tsang et al. (2016), analisando unhas de pacientes com onicomicose, identificaram 12 cepas de *Aspergillus*, dentre elas, *A. hongkongensis*, *A. sydowii*, e *A. welwitschiae*, também foram isoladas no atual estudo. Recentemente, Lima e colaboradores (2022), isolaram uma cepa de *Aspergillus hongkongensis* em amostras de farinhas de berinjela comercializadas em Recife, os autores afirmam que o estudo oferece uma melhor compreensão geográfica de espécies pertencentes ao grupo Eurotiales.

*Talaromyces* é outro táxon bastante diverso, possui espécies encontradas em solos (TSANG et al. 2016; ZHANG et al. 2021), alimentos (BARBOSA et al. 2018) e

cavernas (ALVES et al. 2022). Algumas espécies isoladas de solo, por exemplo, são importantes por sua capacidade de produzir atividades antagônicas contra patógenos de plantas (MANOCH & DETHOUP, 2011). Para esse estudo, duas espécies do gênero foram identificadas. *Talaromyces pinophilus*, isolada nos pontos 1, 2 e 3, é uma espécie endofítica conhecida pela produção de potenciais compostos antimicrobianos utilizados para diversos fins biotecnológicos (WEN-TING et al. 2019). Enquanto *Talaromyces tratensis*, isolada apenas no ponto 2, foi descrita pela primeira vez por Manoch et al. (2013) em amostras de solo na Tailândia, é bastante utilizada para fins industriais pela atividade antagônica a fitopatógenos. Além do solo, *T. tratensis* também foi encontrada em meio aquático (DETHOUP et al. 2018), não possuindo registros em ambientes subterrâneos até o momento, o que torna esse estudo o primeiro relato mundial da ocorrência da espécie *Talaromyces tratensis* em cavernas.

Dentre os isolados identificados, também foram encontrados gêneros pouco relatados em ambientes cavernícolas, validando o potencial da área estudada para descrição de possíveis novidades taxonômicas. Destes, *Wardomyopsis* já foi relatado por Zhang et al. (2017) e (2021), em cavernas na China com a descrição de novas espécies (*Wardomyopsis longicatenata*, *Wardomyopsis dolichi*, *Wardomyopsis ellipsoconidiophora* e *Wardomyopsis fusca*). Ainda não se tem uma posição filogenética resolvida do gênero, embora tenha sido demonstrado que suas espécies agrupam-se como um grupo distinto e linhagem dentro da família Microascaceae (SANDOVAL-DENIS et al. 2016). Poucas espécies são incluídas para o gênero, sendo relatadas apenas nos países da China, Canadá e Espanha, em diferentes tipos de solos e no ar de cavernas (SANDOVAL-DENIS et al. 2016; ZHANG et al. 2021). Para o gênero, esse estudo é o primeiro relato da sua presença na América do Sul.

*Phaeosphaeria* (isolado do ponto 1) é outro táxon pouco relatado em cavernas. O estudo mais recente desse gênero em ambientes subterrâneos é o de Zhang et al. (2017), que descreveu uma nova espécie (*Phaeosphaeria fuispora*), isolada no ar de uma caverna na China. As espécies desse grupo geralmente são encontradas causando doenças em culturas vegetais de grande valor econômico, como o milho, tendo como agente principal a espécie *Phaeosphaeria maydis* (OLIVEIRA et al. 2004). Conhecida popularmente como mancha por *Phaeosphaeria* em milho, essa espécie vem sendo bastante relatada no Brasil (ROLIN et al. 2007;

CONTINI et al. 2019; GONÇALVES et al. 2022). Contudo, nenhum dado para espécies desse gênero foi encontrado em cavernas da Caatinga, tornando até o momento, o atual estudo o primeiro registro de *Phaeosphaeria* em uma caverna. Por se tratar de um gênero com espécies fitopatogênicas (CERVELATTI et al. 1998), sua presença pode estar associada com influências do meio externo, visto que, foi isolado apenas no ponto mais próximo da entrada principal onde possui boa parte de folhiços acumulados nas entradas (ICMBio/CECAV, 2011).

Para o gênero *Alternaria*, cinco isolados foram encontrados e duas espécies identificadas (*Alternaria jacinthico* e *Alternaria alternata*), sendo ambas já relatadas em ambientes cavernícolas (VANDERWOLF et al. 2013; ALVES et al 2022). *Alternaria jacinthicola*, presente em todos os pontos de coleta, possui potencial fitopatogênico, sendo conhecida como causadora de doenças foliares em determinadas plantas (LOU et al. 2018; AI-NADABI et al. 2018). A espécie *Alternaria alternata* é comumente associada com a asma alérgica (SÁNCHEZ et al. 2022), além de muitas linhagens desta espécie serem encontradas como endofíticas e parasitas de plantas (DEMERS, 2022). *A. alternata* também possui potencial enzimático, podendo produzir protease, amilase, pectinase e oxidase (VALENZUELA et al. 2001; DOMSCH et al. 1980). O gênero *Alternaria* é considerado comum em cavernas (VANDERWOLF et al. 2013), porém, para estudos em cavernas do Brasil, o gênero ainda não é tão representativo, quando comparado com outros países (WOUDENBERG et al. 2013; LOU et al. 2013; PATRIARCA, 2016; AMEEN et al. 2022).

O gênero *Cladosporium* é conhecido por conter espécies fitopatogênicas ou endofíticas (REVANKAR & SUTTON, 2010; BENSCH et al., 2012), mas também inclui algumas conhecidas como agentes oportunistas em humanos (SAN MIGUEL et al., 2003). Pereira et al. (2022), analisando a riqueza de *Cladosporium* em uma caverna tropical, descreveram duas novas espécies para o gênero. Em nosso estudo, apenas um isolado foi encontrado e identificado como *Cladosporium halotolerans*. Uma espécie frequentemente encontrada em ambiente marinho (ZHANG et al 2022), ambientes internos como aéreo transportador (BENSCH et al. 2018), e em ambientes oligotróficos (p. ex., cavernas) (PAULA et al. 2021). Esta espécie é muito conhecida por possuir grande potencial patogênico (WANG et al. 2018), como também, biotecnológico (ZHANG et al 2022).

O gênero *Curvularia* também possui uma ampla distribuição, que inclui espécies saprófitas e patogênicas, causando infecções no trato respiratório, infecções cutâneas, cerebrais e da córnea (MARIN-FELIX et al. 2017a, b; TAN et al. 2018). Diversos estudos apontam a presença de representantes desse gênero em diferentes substratos como o ar (MANAMGODA et al. 2015), ambientes aquáticos (VERMA et al. 2013), e solos (MARIN-FELIX et al. 2017a; TAN et al. 2018). Ibrahim et al. (2021), isolaram a espécie *Curvularia lunata* do guano de uma caverna na Malásia, demonstrando que esse táxon também pode ser encontrado em ambiente cavernícola.

Outro gênero que vem sendo citado em amostras de ar e solos de cavernas em alguns países da Ásia, Europa e América do Norte, é *Microascus* (VANDERWOLF et al. 2013; SANDOVAL-DENIS et al. 2016; ZHANG et al. 2021). Seu isolamento é mais frequente em solo, possuindo espécies com potencial patogênico de plantas e animais (BARRON et al. 1961). Em nosso estudo, apenas a espécie *Microascus trigonosporus* foi isolada no ponto 2. *Microascus trigonosporus* é conhecida como uma espécie bastante mencionada em estudos clínicos como agente oportunista em pacientes imunocomprometidos (SCHOEPPLER et al. 2015). O primeiro caso de pneumonia causada pela espécie foi relatado por Mohammed et al. (2004), em um paciente de 24 anos com história de transplante alogênico de medula óssea.

Nenhuma cepa de *Histoplasma capsulatum* foi isolada neste estudo, a espécie é bastante conhecida pela sua capacidade patogênica, podendo ser encontrada em ambientes cavernícolas no guano de morcegos e em solos (VICENTINI et al. 2012). Os ambientes subterrâneos são caracterizados por um microclima muito específico, os fatores importantes que determinam a ocorrência de fungos neles são principalmente o fluxo de ar, as condições predominantes no ambiente externo vizinho, estação do ano, localização geográfica e principalmente a disponibilidade de matéria orgânica (OGOREK et al. 2013, 2014a, 2014b; ZAMPAULO, 2015; CUNHA et al. 2020). Estando esses fatores possivelmente associados ao isolamento de espécies fúngicas neste estudo encontradas tanto no ambiente subterrâneo, como também na superfície, em associação com vegetais, animais, entre outros. Desta forma, o presente estudo fornece um levantamento preliminar da abundância e riqueza de fungos presentes no sedimento da caverna

Catedral, contribuindo para futuros estudos associados à biodiversidade fúngica e com a elaboração de planos de manejo de cavernas do domínio Caatinga.

## 7. CONCLUSÕES

- A caverna Catedral apresentou uma riqueza elevada de fungos cultiváveis presentes no sedimento, incluindo táxons nunca isolados na América do Sul;
- A maior abundância de fungos foi contabilizada no ponto de transição entre o salão principal e a entrada. Já a menor abundância de fungos foi observada no ponto mais interno da caverna, sem interação com o meio externo;
- *Aspergillus* e *Alternaria* foram os gêneros mais abundantes, estando presentes em todos os pontos estudados da caverna;
- Foram isolados gêneros fúngicos com potencial fitopatogênico;
- A caverna Catedral possui circulação de fungos de potencial patogênico importante, que pode causar danos à saúde em eventuais visitantes da caverna;
- Futuras visitas devem ser realizadas em condições controladas, de forma a prevenir que visitantes fiquem expostos a estes microorganismos potencialmente patogênicos;
- Os dados aqui apresentados confirmam a necessidade de estudos deste tipo, pois contribuem para o estabelecimento de um plano de manejo e visita segura em cavernas.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, J A S., ROVIDA, AMANDA, F S., PAMPHILE, J A. **Fungos de interesse: aplicações biotecnológicas.** UNINGÁ Review, Vol.21,n.1,pp.55-59, 2015.
- ALVAREZ, I. A.; OLIVEIRA, A. R. **Manejo da Caatinga é essencial ao desenvolvimento do Semiárido.** Portal Dia de Campo. Artigos especiais. 2013.
- ALVES VCS, LIRA RA, LIMA JMS, BARBOSA RN, BENTO DM, BARBIER E, BERNARD E, SOUZA-MOTTA CM, BEZERRA JDP (2022). **Unravelling the fungal darkness in a tropical cave: richness and the description of one new genus and six new species.** Fungal Systematics and Evolution 10: 139–167. Doi: 10.3114/fuse.2022.10.06.
- AL-NADABI, HH, MAHARACHCHIKUMBURA, SSN, AGRAMA, H. et al. (2018). **Caracterização molecular e patogenicidade de espécies de *Alternaria* em trigo e tamareiras em Omã.** Jornal Europeu de Patologia Vegetal, 152, 577–588. Doi.org/10.1007/s10658-018-1550-4.
- AMEEN, F. et al. **Antioxidant, antibacterial and anticancer efficacy of *Alternaria chlamydospora*-mediated gold nanoparticles.** *Appl Nanosci* 13, (2023). <https://doi.org/10.1007/s13204-021-02047-4>.
- AULER, A. 2006. **Relevância de Cavidades Naturais Subterrâneas – Contextualização, Impactos Ambientais e Aspectos Turísticos.** Relatório 01. Projeto BRA/01/039. Ministério de Minas e Energia. Secretaria Executiva. Brasília, DF 166.
- ARASTEHFAR, A. et al. **Aspergillus fumigatus and aspergillosis: From basics to clinics.** *Studies in Mycology*, v. 100, p. 100115, 2021. Doi: 10.1016/j.simyco.2021.100115.
- AZADEH, H. and BANAFSHEH, S. **Identification of fungi from soil and sediment in Jefriz Cave; the first survey in a cave from Iran.** *Journal of Cave and Karst Studies*, v. 83, no. 2, p. 71-77. Doi:10.4311/2019MB0145.
- AZEVEDO, M.O.; FELIPE, M.S.S.; ASTOLFI, S.F. & RADFORD, A. **Cloning, sequencing and homologies of the cbh-1 (exoglucanase) gene of *Humicola grisea* var. *thermoidea*.** *Microbiology*. Vol. 136, Edição 12, 1990. Doi.org/10.1099/00221287-136-12-2569.
- BARBOSA, RN. BEZERRA, JDP. MOTTA, CMS. FRISVAD, JC. SAMSON, RA. OLIVEIRA, NT. HOUBRAKEN, J. (2018). **New *Penicillium* and *Talaromyces* species from honey, pollen and nests of stingless bees.** Springer. doi.org/10.1007/s10482-018-1081-1.
- BAJPAI A, RAWAT S, JOHRI BN. **Fungal diversity: global perspective and ecosystem dynamics.** In: *Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications*. Springer, Singapore, p. 83-113, 2019. DOI: 10.1007/978-981-13-8315-1\_4.

BARTOON, H.A., NORTHUP, D.E. 2007. **Geomicrobiology in cave environments: past, current and future perspectives.** *Journal of Cave and Karst Studies* 69: 163–178.

BARRON, GL, CAIN, RF, & GILMAN, JC. (1961). **O Gênero *Microascus*.** *Canadian Journal of Botany*, 39(7), 1609–1631. doi:10.1139/b61-143.

BASTIAN, F. JURADO, V. NOVAKOVA, A. ALABOUVETTE, C. SAIZ-JIMENEZ, C. **The microbiology of Lascaux Cave.** *Microbiology*. v.156, p. 644–652, 2010. Doi: 10.1099/mic.0.036160-0.

BENSCH, K.; BRAUN, U.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. **The genus *Cladosporium*.** *Studies in Mycology*, v. 72, p. 1-401, 2012.

BENTO, D. M. **Diversidade de invertebrados em cavernas calcárias do Oeste potiguar: subsídios para a determinação de áreas prioritárias para conservação.** Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas, CB- UFRN. 160 p., 2011.

BERNARD, E. ; BEZERRA, J. D. P. ; SOUZA-MOTTA, C. M. 2022. **Richness of *Cladosporium* in a tropical bat cave with the description of two new species.** *MYCOLOGICAL PROGRESS*, v. 21, p. 345-357.

BEZERRA, J.D.P. **Diversidade de fungos endofíticos de Mandacaru (*Cereus Jamacaru* Dc., *Cactaceae*) em áreas sucessionais de Caatinga.** Programa de PósGraduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE. 2013.

BEZERRA, J. M.; MOURA, G. B. A.; SILVA, B. B.; LOPES, P. M. O.; SILVA, E. F. F. **Parâmetros biofísicos obtidos por sensoriamento remoto em região semiárida do estado do Rio Grande do Norte, Brasil.** *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 18 (1), 73–84, 2014. Doi: 10.1590/ S1415-43662014000100010.

BEZERRA JDP, OLIVEIRA RJV, PAIVA LM. et al. **Bezerromycetales and Wiesneriomycetales ord. nov. (class Dothideomycetes), with two novel genera to accommodate endophytic fungi from Brazilian cactus.** *Mycol Progress* 16 , 297–309 (2017). <https://doi.org/10.1007/s11557-016-1254-0>.

BINDSCHIEDLER, S., MILLIERE, L., CAILLEAU, G., JOB, D., VERRECCHIA, E.P. 2012. **An ultrastructural approach to analogies between fungal structures and needle fiber calcite.** *Geomicrobiology Journal* 29: 301–313.

BISANÇÃO, V.T.; GOLIAS, H.C.; POLONIO, J.C. **Cogumelos Basidiomycota: fontes de compostos com atividade anticâncer.** *Arquivos do Mudi*, vol. 26, n2, p29-46, 2022.

BUCKLAY, M. **The fungal kingdow: diverse and essential roles in Earth**

**ecosystem.** American Academy of Microbiology, 2008.

BURFORD, E., FOMINA, M., GADD, G. 2003. **Fungal involvement in bioweathering and biotransformation of rocks and minerals.** Mineralogical Magazine 67: 1127–1155.

BRANDÃO L.J. et al. **Caracterização espeleológica e sedimentar de uma caverna do Maciço Quartzítico Serra São José, Minas Gerais.** Revista Brasileira de Espeleologia – RBE.sp nº: 1, 2022. Disponível em: file:///C:/Users/maath/Downloads/2315-Texto%20do%20Artigo-12528-2-10-20220829.pdf. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

BRASIL. Resolução nº 347, de 2004. **Dispõe sobre a proteção do patrimônio espeleológico.** Diário Oficial, Brasília, DF, 10 setembro. 2004.

BRASIL. **Anuário Estatístico do Patrimônio Espeleológico Brasileiro 2020.** Brasília, DF: MMA, 2020. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1zCOe0LYJ0YCXu6uRqO3d0s3ibomg0Snr/view>. Acesso em: 09 de março de 2023.

CANIE, 2017. **Cadastro Nacional de Informações Espeleológicas.** Disponível: <http://www.icmbio.gov.br/cecav/canie/> Acesso em: 06 de março de 2023.

CAVALCANTI, M.A.Q.; OLIVEIRA, L.G.; FERNANDES, M.J.; LIMA, D.M. **Fungos filamentosos isolados do solo em municípios na região Xingó.** Acta bot. bras. 20(4): 831-837. 2006. Doi.org/10.1590/S0102-33062006000400008.

CENTRO NACIONAL DE PESQUISA E CONSERVAÇÃO DE CAVERNAS – ICMBIO/CECAV. **Anuário estatístico do patrimônio espeleológico brasileiro 2020.** Disponível em: [https://www.icmbio.gov.br/cecav/images/stories/downloads/Anuario/CECAV\\_-\\_Anuario\\_estatistico\\_espeleol%C3%B3gico\\_2020.pdf](https://www.icmbio.gov.br/cecav/images/stories/downloads/Anuario/CECAV_-_Anuario_estatistico_espeleol%C3%B3gico_2020.pdf). Acesso em: 05 de fevereiro de 2023.

CERVELATTI, E.P. et al. (1998). **Caracterização citológica de *Phyllosticta sp* (f.p. *Phaeosphaeria maydis*).** Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/480653/1/Caracterizacaocitologica.pdf>. Acesso em: 20 de março de 2023.

CONAMA: **Resoluções vigentes publicadas entre 1984 e janeiro de 2012.** Ministério do Meio Ambiente: MMA, p97. 2012. Disponível em: <http://conama.mma.gov.br/images/conteudo/LivroConama.pdf>. Acesso em 25 de fevereiro de 2023.

CONTINI, E. et al. (2019). SÉRIE DESAFIOS DO AGRONEGÓCIO BRASILEIRO (NT2). **Milho - Caracterização e Desafios Tecnológicos.** Embrapa. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/195075/1/Milho-caracterizacao.pdf>. Acesso em: 17 de fevereiro de 2023.

COSTA, PHO. **Diversidade microbiana na rizosfera de *Dioclea apurensis* kunth em áreas nativas e de recuperação em Carajás.** Belém: Instituto Tecnológico Vale - ITV, 2021.

COUTINHO, L.M. **Biomass Brasileiros**. São Paulo, Oficina de Textos. 2016.

CULVER, D. C., PIPAN, T. 2009. **The biology of caves and other subterranean habitats**. Oxford University Press, USA. Doi.org/10.1093/icb/icp040.

CUNHA AOB. et al. **Living in the dark: Bat caves as hotspots of fungal diversity**. PLoS ONE, v. 15, n. 12, e0243494, 2020.

CURY, G.C; FILHO, A.D; CRUZ, A.G; HOBAIKA, A.B.S. **Surto de histoplasmose em Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v.34, n.5, p.483-486, 2001.

CRISPIM, M. 2020. **Conservação e Parques Nacionais na Caatinga**. EcoNordeste. Disponível em: <https://agenciaeconordeste.com.br/conservacao-e-parques-nacionais-na-caatinga/>. Acesso em: 23 de março de 2023.

DE PAULA, E.H.; RAMOS, L.P. & AZEVEDO, M.O. **The potencial of *Humicola grisea* var. *thermoidea* for bioconversion of sugar cane bagasse**. Bioresour Technol. 68:35–41, 1999. Doi:org/10.1016/S0960-8524(98)00081-9.

DETHOUP, T., KAEWSALONG, N., SONGKUMORN, P., & JANTASORN, A. (2018). **Potential application of a marine-derived fungus, *Talaromyces tratensis* KUFA 0091 against rice diseases**. Biological Control, 119, 1–6. doi:10.1016/j.biocontrol.2017.11.008.

Dicionário **Caldas Aulete da língua portuguesa**: edição de bolso (atualização do banco de palavras conselho dos Dicionários Caldas Aulete, editor responsável Paulo Geiger apresentação Evanildo Bechara. 2° ed. Rio de Janeiro: Lexikon Editora Digital, 2008.

DOBAT K. 1967. **Ein bisher unveröffentlichtes botanisches manuskript Alexander von Humboldts: *Plantae subterraneae Europ***. 1794 cum Iconibus. Akademie Der Wissenschaften und der Literatur 6: 16–19.

DOMINGUEZ-MOÑINO, I., JURADO, V., ROGERIO-CANDELERIA, M. A., HERMOSIN, B., & SAIZ-JIMENEZ, C. (2021). **Airborne Fungi in Show Caves from Southern Spain**. Applied Sciences, 11(11), 5027. <https://doi.org/10.3390/app11115027>.

DOMSCH KH, W GAMS & TH ANDERSON (1980) **Compendium of solo fungi . Vol. I**. Academic Press Ltd., Londres, Inglaterra. 859 pp.

DÜMIG, M. et al. **The infectious propagules of *Aspergillus fumigatus* are coated with antimicrobial peptides**. Cellular Microbiology, p. e13301, 2021. oi: 10.1111/cmi.13301.

DUTRA, Y.L.G. **Taxonomia e filogenia molecular de fungos da caverna monte cristo na serra do espinhaço meridional (diamantina - minas gerais)**. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, Ceará. 2020.

DEMERS, M. ***Alternaria alternata* as endophyte and pathogen.** Microbiology, Volume 168, Issue 3. Doi:org/10.1099/mic.0.001153.

EBLING, L. et al. (2020). **Levantamento de fungos agaricales (*basidiomycota*) em floresta estacional semidecidual no sul do Brasil: Análise preliminar.** Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 10, n. 2.

EHRlich, HL. NEWMAN, DK. **Geomicrobiology.** CRC Press: Boca Raton, FL. 2009.

ENGEL, A.S. 2007. **Observations on the biodiversity of sulfidic karst habitats.** *Journal of Cave and Karst Studies* 69: 187–206.

FORTUNA, J. L. **Apostila da Disciplina de Biologia dos Fungos.** Teixeira de Freitas: Projeto Fungus Extremus, UNEB, Campus X. 2020, 27 p.

GANEM, RS (2009). **As cavidades naturais subterrâneas e o Decreto nº 6.640/2008.** Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados. Disponível em: <https://www.terrabrasilis.org.br/ecotecadigital/pdf/as-cavidades-naturais-subterr-s-e-o-decreto-no-66402008-.pdf>. Acesso em 25 de Março de 2023.

GABRIEL, C.R.; NORTHUP, D.E. (2013). **Microbial ecology: caves as an extreme habitat.** Cheeptham N (ed) *Cave microbiomes: a novel resource for drug discovery*, vol 1. Springer, New York, pp 85–108 [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5206-5\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5206-5_5).

GONÇALVES, F.P. et al. 3ª Vitrine Tecnológica Agrícola: **Atualidades na cultura do milho em sistema soja e milho-safrinha** / editores Daniel Carneiro de Abreu et al. Cuiabá: Uniselva, 2022. Cap 6, p 91- 104.

GONZALEZ-PIMENTEL J. L., SAIZ-JIMENEZ C. (2021). **Diversity and seasonal dynamics of airborne fungi in Nerja Cave, Spain.** *Appl. Sci.* 11:6236. doi: 10.3390/app11136236.

GRBIĆ L. et al. **Mycobiome Diversity of the Cave Church of Sts. Peter and Paul in Serbia—Risk Assessment Implication for the Conservation of Rare Cavern Habitat Housing a Peculiar Fresco Painting.** *Journal of Fungi* 2022, 8, 1263. <https://doi.org/10.3390/jof8121263>.

HADDAD-MARTIM, P.M. et al. (2017) **Quaternary depositional facies in cave entrances and their relation to landscape evolution: The example of Cuvieri Cave, eastern Brazil.** *Catena*, v.157, p.372–387.

HAWKSWORTH, D.L. 2011. **Naming *Aspergillus* species: progress towards one name for each species.** *Medical Mycology* 49: 70–76.

HELD, B.W., SALOMON, C.E., BLANCHETTE, R.A. 2020. **Diverse subterranean fungi of an underground iron ore mine.** *Plos One* 15. doi.org/10.1371/journal.pone.0234208.

Hong SB, Cho HS, Shin HD, et al. (2006). **Novel Neosartorya species isolated from soil in Korea**. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 56: 477–485.

HOWARTH, FG. **The zoogeography of specialized cave animals: a bioclimatic model**. International Journal of Organic Evolution vol.34 (2), p394-406, 1980. doi.org/10.1111/j.1558-5646.1980.tb04827.x.

IBRAHEM, G. W. et al. (2021). **Fungal communities in bat guano, speleothem surfaces, and cavern water in Madai cave, Northern Borneo (Malaysia)**. Mycology, 12:3, 188-202, Doi: 10.1080/21501203.2021.1877204.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2019. **Biomass e sistema costeiro-marinho do Brasil**: compatível com a escala 1:250.000. Rio de Janeiro, Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. 168 p. (Relatórios metodológicos,v.45). Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=2101676>. Acesso em 06 de março de 2023.

ICMBio/CECAV/MMA. **Relatório Final – Projeto Karst Jandaíra**. Caracterização da sensibilidade ambiental e mapeamento das cavernas de Felipe Guerra e do Sítio Espeleológico Da Furna Feia e áreas cársticas adjacentes. 2011.

ICMBio. **Cavidades naturais subterrâneas**. Disponível em: <<https://www.icmbio.gov.br/cecav/cavidades-naturais-subterraneas.html#topo>>. Acesso em:13 de fevereiro de 2023.

ICMBio, (Instituto Chico Mendes De Conservação da Biodiversidade). ICMBio/CECAV (Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas). **Anuário estatístico do patrimônio espeleológico brasileiro**. 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cecav/patrimonio-espeleologico-em-pauta-1/icmbio-cecav-publica-relatorio-anual-2022>. Acesso em 15 de março de 2023.

IVO, L. (2021). **An underworld tailored to tourists: A dragon, a photo-model, and a bioindicator**. Journal of Cave and Karst Studies, v. 83, no. 2, p. 57-65. Doi:10.4311/2018SS0106.

JESUS, DS. OLIVEIRA, TV. **Morcegos (Mammalia, Chiroptera) em egagrópilas da coruja-das-torres (Tyto furcata) em uma caverna do nordeste brasileiro**. Bol. Mus. Biol. Mello Leitão 2017, 39(1):69-93.

JURADO V, FERNANDEZ-CORTES A, CUEZVA S, LAIZ L, CANAVERAS JC, SANCHEZMORAL S, SAIZ-JIMENES C. **The fungal colonization of rock art caves**. Naturwissenschaften. p1027-1034, 2009.

JURADO V, PORCA E, CUEZVA S, FERNANDEZ-CORTES A, SANCHEZ-MORAL S, SAIZ-JIMENEZ C. 2010. **Fungal outbreak in a show cave**. Sci. Total Environ. 408, 3632–3638. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.04.057.

JURADO V, SÁIZ-JIMÉNEZ C. **Vida microbiana en las cavernas: el fascinante mundo de la biodiversidad subterránea y su papel en los procesos de deterioro.** Enseñanza de las Ciencias de la Tierra 24: 51–60. 2016.

JURADO V, DEL ROSAL Y, LIÑAN C, MARTIN-POZAS T, GONZALEZ-PIMENTEL JL, SAIZ-JIMENEZ C. 2021. **Diversity and seasonal dynamics of airborne fungi in Nerja Cave, Spain.** Appl. Sci. 11:6236. doi: 10.3390/app11136236.

KING JR AD, HOCKING AD, PITT JI (1979). **Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods.** Applied and Environmental Microbiology, 37(5): 959–964. Doi.org/10.1128/aem.37.5.959-964.1979.

KOKUREWICZ T, OGÓREK R, PUSZ W, MATKOWSKI K. **Bats increase the number of cultivable airborne fungi in the “Nietoperek” bat reserve in Western Poland.** Microb Ecol., v.72, p. 36–48, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0763-3>.

KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. **MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 70 for bigger datasets.** Mol Biol Evol. 2016; 33: 1870-1874.

LEAL, E. S. B. **Potencial espeleológico, uso de abrigos e mobilidade de grandes congregações de morcegos no carste arenítico do Parque Nacional do Catimbau e área de entorno, nordeste do Brasil.** Tese para o Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE. 2021.

LEÃO. A, F. **Fungos Cavernícolas da Gruta Velha Nova na Serra Do Espinhaço em Monjolos, Minas Gerais - Brasil.** Tese para o Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. Minas Gerais - MG (2021).

LEMES, CGC. **Predição metabólica e prospecção de bactérias biocontroladoras e promotoras de crescimento vegetal obtidas em cavernas ferruginosas do Quadrilátero Ferrífero como potenciais inoculantes.** 2022. 93 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2022.

LEWINSOHN, T.M., FREITAS, A.V.L., PRADO, P.I. 2005. **Conservação de invertebrados terrestres e seus habitats no Brasil.** Megadiversidade 1: 62–69.

Liu YJ, Whelen S, Hall B (1999). **Phylogenetic relationship among Ascomycetes: Evidence from an RNA Polymerase e II Subunit.** Molecular Biology and Evolution 16: 1799–1808.

LIMA A.K.S , TORRES D.R., FERNANDES O.C.C., SILVA J.C., MENDES L., ARAÚJO C.P.M. **Enzimas extracelulares de Aspergillus e Penicillium conservados na Coleção de Fungos da Amazônia-CFAM.** Editora INPA. 2015.

LIMA, J M S. et al. **First record of Aspergillus hongkongensis CC Tsang et al.(Eurotiales, Ascomycota) in South America and the third report worldwide.**

Check List, v. 18, n. 4, p. 875-881, 2022.

LINDNER D.L. et al. (2011). **DNA-based detection of the fungal pathogen *Geomyces destructans* in soils from bat hibernacula.** Mycologia, 103 (2): 241-246. <http://dx.doi.org/10.3852/10-262>.

LORCH J.M., LINDNER D.L., GARGAS A., MULLER L.K., MINNIS A.M. & BLEHERT D.S. **A culturebased survey of fungi in soil from bat hibernacula in the eastern United States and its implications for detection of *Geomyces destructans*, the causal agent of bat white-nose syndrome.** Mycologia preliminary version published online October 16, 2012. <http://dx.doi.org/10.3852/12-207>.

LOU, J.; FU, L.; PENG, Y.; ZHOU, L. **Metabolites from *Alternaria* Fungi and Their Bioactivities.** Molecules. 2013. <https://doi.org/10.3390/molecules18055891>.

LOU, H. et al. (2018). **First Report of Leaf Spot Disease Caused by *Alternaria jacinthicola* on *Tagetes erecta* in China.** Published Online. Doi:org/10.1094/PDIS-01-18-0182-PDN.

MANAMGODA, D.S. et al. (2015). **A taxonomic and phylogenetic re-appraisal of the genus *Curvularia* (*Pleosporaceae*): human and plant pathogens.** Phytotaxa, Vol. 212 N° 3. Doi:org/10.11646/phytotaxa.212.3.1.

MANOCH, L.& DETHOUP, T. **A Potential Use of *Talaromyces* species as Biological Agents Against Plant Pathogenic Fungi.** Thai Journal of Agricultural Science 2011, 44(2): 81-91.

MANOCH, L., DETHOUP, T., YILMAZ, N., HOUBRAKEN, J., & SAMSON, R. A. (2013). **Two new *Talaromyces* species from soil in Thailand.** Mycoscience, 54(5), 335–342. doi:10.1016/j.myc.2012.12.002.

MELLO, C.M.A et al. **Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares em área de Caatinga, PE, Brasil.** Acta Botanica Brasilica 26(4), 2012. Doi.org/10.1590/S0102-33062012000400023.

MARIN-FELIX Y, GROENEWALD JZ, CAI L, CHEN Q. et al. 2017 – **Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1.** Studies in Mycology 86, 99–216. Doi: 10.1016/j.simyco.2017.04.002.

MARIN-FELIX Y, SENWANNA C, CHEEWANGKOON R. et al (2017b). **New species and records of *Bipolaris* and *Curvularia* from Thailand.** Mycosphere 8:1556–1574. Doi: 10.5943/micosfera/8/9/11.

MESSIAS JM, COSTA BZ, LIMA VMG, GIESE EC, DEKKER RFH, BARBOSA AM (2011). **Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas.** Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina 213-234. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/126837/ISSN1679-0375-2011-32-02-213-234.pdf?sequence=1>. Acesso em: 26 de fevereiro 2023.

- METEYER, C.U. et al. 2009. **Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in bats**. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 21, p. 411–414. Doi. org/10.1177/104063870902100401.
- MILLER MA, PFEIFFER W, SCHWARTZ T. **Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees**. In: 2010 Gateway Computing Environments Workshop (GCE). 2010. pp 1-8.
- MMA, Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade Brasileira**. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira.html>. Acesso em: 25 de Março de 2023.
- MMA, Ministério do meio ambiente (2022). **Caatinga**. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/ecossistemas-1/biomas/caatinga>. Acesso em: 06 de março de 2023.
- NAGARAJAN, C.; THAYANIDHI, P.; KINDO, A. J.; RAMARAJ, V.; MOHANTY, S.; ARUNACHALAM, R. **Fungal Rhinosinusitis: Report of uncommon Aspergillus species as etiological agents**. *International Journal of Case Reports and Images*, v. 5, n. 1, p.13–17, 2014.
- NASCIMENTO, J. S. **Biologia de Microrganismos: Unidade 1 Introdução à microbiologia**. Portal Virtual - UFPB, p 263-265, 2010.
- NASCIMENTO, S.S. ***Cladophialophora bromeliacearum* (Herpotrichiellaceae, Chaetothyriales), a novel endophytic species from the Brazilian tropical dry forest**. *Phytotaxa*, Vol. 509 No. 2: 29 Jun. 2021. Doi: <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.509.2.4>.
- NOVÁKOVÁ A. **Microscopic fungi isolated from the Domica Caves system (Slovak Karst National Park, Slovakia). A review**. *International Journal of Speleology* 38: 71–82. 2009.
- NOVÁKOVÁ, A., HUBKA, V., SAIZ-JIMENEZ, C., KOLARIK, M. 2012. ***Aspergillus baeticus* sp. nov. and *Aspergillus thesauricus* sp. nov., two species in section *Usti* from Spanish caves**. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62: 2778–2785.
- NOVÁKOVÁ, A. et al. (2018). **Fungos microscópicos cultiváveis de um ecossistema subterrâneo baseado em quimiossíntese: um estudo preliminar**. *Folia Microbiol* 63 , 43–55. <https://doi.org/10.1007/s12223-017-0527-6>.
- NYLANDER JAA. **MrModeltest Version 2**. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University; 2004.
- OGÓREK R, LEJMAN A, MATKOWSKI K. 2013. **The fungi isolated from the Niedźwiedzia Cave in Kletno (Lower Silesia, Poland)**. *International Journal of Speleology* 42: 161–166. Doi.org/10.5038/1827-806X.42.2.9.

OGÓREK R, LEJMAN A, MATKOWSKI K. (2014a). **Influence of the external environment on airborne fungi isolated from a cave:** Polish Journal of Environmental Studies, v. 23, no. 2, p. 435–440.

OGÓREK R, PUSZ W, LEJMAN A, UKLAN´SKA-PUSZ C. (2014b). **Microclimate effects on number and distribution of fungi in the Włodarz underground complex in the Owl mountains (Góry Sowie), Poland:** Journal of Cave and Karst Studies, v. 76, no. 2, p. 146–153. doi:10.4311/2013MB0123.

OGOREK, R. DYLA, M. KOZAK, B. VISNOVSKA, Z. TANCINOVA, D. AND LEJMAN, A. (2016). **Fungi isolated and quantified from bat guano and air in Harmanecka´ and Driny Caves (Slovakia).** Journal of Cave and Karst Studies, v. 78, no. 1, p. 41–49. Doi: 10.4311/2015MB0108.

OGÓREK, R. et al. (2022). **Fungi in Cave Ecosystems: A Culture-Based Study of Brestovská Cave and Demänovská L'adová and Slobody Caves (Slovakia).** Applied. Sciencie.12, 1455. <https://doi.org/10.3390/app12031455>.

OLIVEIRA, J. C. **Tópicos em Microbiologia Médica.** 4 Ed. Capt 1. Rio de Janeiro; 2014.

OLIVEIRA LA. et al. **Conhecimento, conservação e uso de fungos.** Manaus: Editora INPA, 2019.

OLIVEIRA, T.G.L. **Diversidade de fungos endofíticos de folíolos e ramos da catingueira [*Poincianella pyramidalis* (tul.) L.P. Queiroz] de área de Caatinga.** Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos da Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE. 2019.

OLIVEIRA, E; FERNANDES, F.T; CARVALHO, E.M; MACHADO, J.C. **A Mancha Por *Phaeosphaeria* Em Milho No Brasil: Evidências De Um Novo Agente Etiológico.** XXV Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2004. Cuiabá - Mato Grosso. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/488277/1/Manchaphaeosphaeria.pdf>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

OTÁLORA-ARDILA A, TORRE JM, BARBIER E, PIMENTEL NT, LEAL ESBL, BERNARD E. 2020. **Thermally-Assisted Monitoring of Bat Abundance in an Exceptional Cave in Brazil's Caatinga Drylands.** Acta Chiropterologica. 21(2):411-423. Doi.org/10.3161/15081109ACC2019.21.2.016.

PATRIARCA, A. **Alternaria in food products.** Current Opinion in Food Science, Volume 11, 2016, Pages 1-9. Doi.org/10.1016/j.cofs.2016.08.007.

PAULA, C. C P.; MONTOYA, Q. V.; RODRIGUES, A.; BICHUETTE, M. E.; SELEGHIM, M. H. R. **Terrestrial filamentous fungi from Gruta do Catão (São Desidério, Bahia, Northeastern Brazil) show high levels of cellulose degradation.** Journal of Cave and Karst Studies, v. 78, p. 208-217, 2016.

PAULA, C.C.P. et al. **First Report of Halobacteria Dominance in a Tropical**

- Cave.** BioRxiv: the Preprint Server for Biology. 2021. Doi.org/10.1101/2021.12.02.470950.
- PARAPOULI M, VASILEIADIS A, AFENDRA AS, HATZILOUKAS E. **Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications.** AIMS Microbiol. 2020 Feb 11;6(1):1-31. doi: 10.3934/microbiol.2020001.
- PARK S, CHO YJ, JUNG D, JO K, LEE EJ, LEE JS. 2020. **Microbial Diversity in Moonmilk of Baeg-nyong Cave, Korean CZO.** Front. Microbiol 11. doi.org/10.3389/fmicb.2020.00613.
- PEAY K, KENNEDY P, & TALBOT J. **Dimensions of biodiversity in the Earth mycobiome.** *Nat Rev Microbiol* 14, 434–447 (2016). <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.59>.
- PEREIRA, MLS. CARVALHO, JLVR. LIMA, JMS. *et al.* 2022. **Richness of Cladosporium in a tropical bat cave with the description of two new species.** *Mycological Progress* 21: 345–357.
- PORTER, M.L. *et al.* **Productivity- Diversity Relationships from Chemolithoautotrophically Based Sulfidic Karst Systems.** International Journal of Speleology. 38 (1), 27-40, Bologna, Italia, January, 2009.
- POULSON, T. L.; WHITE, W. B. **The cave environment.** Science, v. 165, n. 3897, p. 971-981, 1969. DOI: 10.1126/science.165.3897.971.
- PUSZ W, OGÓREK R, KNAPIK R, KOZAK B, BUJAK H. **The occurrence of fungi in the recently discovered Jarkowicka cave in Karkonosze Mts. (Polônia)** Geomicrobiol. J. 2014; 32 :59–67. doi.org/10.1080/01490451.2014.925010.
- PFALLER, M. A.; PAPPAS, P. G.; WINGARD, J. R. **Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends.** Clinical Infectious Diseases, v. 43, n. Supplement\_1, p. S3-S14, 2006.
- QUEIROZ, C., SOUZA, A.C.B. (2020). **Production of hydrolytic enzymes by filament fungi in different solid substrates.** Brazilian Journal of Development. Doi:10.34117/bjdv6n7-725.
- RAJI, RO. OYEWOLE, OA. IBRAHIM, OH. TIJANI, YN. GANAÇÃO, M. (2019). **Microbial communities and activities in caves.** Brazilian Journal of Biological Sciences. v. 6, n. 14, p. 557-564, 2019. doi.org/10.21472/bjbs.061407.
- RAMBAUT, A. **FigTree v1.3.1.** Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. 2010.
- REVANKAR, S.G., SUTTON, D.A. **Melanized fungi in human disease.** Clin. microbiol. rev., 23(4), 884-928. 2010.
- RAWAT, S.; RACHN, R.; JOHRI, B.N. 2017. **Fungal world of cave ecosystem.** Springer Nature Singapore.7: 99-124.

- RICHARDSON, M. J. **Records of coprophilous fungi from the Lesser Antilles and Puerto Rico.** Caribbean Journal of Science, v. 44, n. 2, p. 206-214, 2008.
- RINALDI, A. C.; COMADINI, O.; KUYPER, T. W. **Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff.** Fungal Divers, n. 33, p1– 45, 2008.
- RODRIGUES, DA., et al. **Atlas de dermatologia em povos indígenas** [online]. São Paulo: Editora Unifesp, 2010. Doenças causadas por fungos, p. 59-80. ISBN 978-85-61673-68-0. Available from SciELO Books.
- ROLIM, G.S. et al. (2007). **Modelo agrometeorológico regional para estimativa da severidade da mancha de *Phaeosphaeria* em milho safrinha no estado de São Paulo.** Brasil. Bragantia, vol.66, n4, p721-728. Doi.org/10.1590/S0006-87052007000400023.
- RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, AYRES DL, DARLING A, HÖHNA S, et al. **MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space.** Syst Biol. 2012;61: 539-542. doi: 10.1093/sysbio/sys029.
- SÁNCHEZ P, VÉLEZ-DEL-BURGO A, SUÑÉN E, MARTÍNEZ J, POSTIGO I. **Fungal Allergen and Mold Allergy Diagnosis: Role and Relevance of *Alternaria alternata* Alt a 1 Protein Family.** Journal of Fungi. 2022; 8(3):277. https://doi.org/10.3390/jof8030277.
- SANDOVAL-DENIS, M. et al. (2016). **Phylogeny and taxonomic revision of *Microasceae* with emphasis on synnematous fungi.** Studies in Mycology, 83, 193–233. doi:10.1016/j.simyco.2016.07.002.
- SANTOS, E.RD. **Material Complementar ao livro Sistemática Vegetal I: Fungos.** Florianopolis. 2015.
- SANTOS, A.F.A. **Bioprospecting of enzymes produced by *Aspergillus tamarii* URM 4634, isolated from Caatinga soil, by solid state fermentation.** Brazilian Journals, Vol. 6 No.5, 2020. Doi: https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-135.
- SAN MIGUEL, M. M, CISTERÓ, A. B. **Utilidad de los alérgenos recombinantes de hongos en la práctica diaria.** Alergol Inmunol Clin, v. 18, n. 3, p. 117-21, 2003.
- SILVA, A. K. F. DA, LISBOA, J. E. S., BARBOSA, M. P. C. S., & LIMA, A. F. DE. (2014). **Infecções Urinárias Nosocomiais Causada por Fungo Do Gênero *Candida*: Uma Revisão.** Caderno De Graduação - Ciências Biológicas E Da Saúde - UNIT - ALAGOAS, 2(1), 45–57. Disponível em: https://periodicos.set.edu.br/fitsbiosauade/article/view/1013. Acesso em 15 de março de 2023.
- SOBRAL, LV, LIMA DX, LIMA JMS, BARBOSA RN, CRUZ R, SOUZA-MOTTA CM. (2020). **First report of *Penicillium costaricense* Visagie, M. Urb & Seifert**

**(Eurotiales, Ascomycota) in South America and a second report for the world.** Check List 16 (6): 1457–1463.

Sung GH, Sung JM, Hywel-Jones NL, et al. (2007). **A multi-gene phylogeny of Clavicipitaceae (Ascomycota, Fungi): Identification of localized incongruence using a combinational bootstrap approach.** Molecular Phylogenetics and Evolution 44: 1204–1223

SOUZA PM, MAGALHÃES PO. (2010) **Application of microbial  $\alpha$ -amylase in industry: A review.** Brazilian Journal of Microbiology 41: 850-861. 10.1590/S1517-83822010000400004.

SCHOEPLER, K.E. et al. 2015. "**Invasive *Microascus trigonosporus* Species Complex Pulmonary Infection in a Lung Transplant Recipient**". Case Reports in Transplantation, vol. 2015, Article ID 745638, 5 pages. <https://doi.org/10.1155/2015/745638>.

SHAPIRO J, PRINGLE A. **Anthropogenic Influences on the Diversity of Fungi Isolated from Caves in Kentucky and Tennessee.** The American Midland Naturalist 163-01-08. 3d. 2010.

SHETTY, S. SREEPADA, KS. BHAT, R. (2013). **Effect of bat guano on the growth of *Vigna radiata* L.** International Journal of Scientific and Research Publications, v. 3, 8 p.

SPOLADORE A., COTTAS, L.R. 2007. **Ornamentos de cavernas areníticas. Anais do XXIX Congresso Brasileiro de Espeleologia Ouro Preto MG - Sociedade Brasileira de Espeleologia,** pp 289-295. Disponível em: [https://www.cavernas.org.br/wp-content/uploads/2021/07/29cbe\\_289-295.pdf](https://www.cavernas.org.br/wp-content/uploads/2021/07/29cbe_289-295.pdf). Acesso em 6 de março de 2023.

STAMATAKIS, A. (2014). **RAxML versão 8: uma ferramenta para análise filogenética e pós-análise de grandes filogenias.** Bioinformática , 30 , 1312 – 1313 . <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>.

STEIN, A.; GERSTNER, K.; KREFT, H. **Environmental heterogeneity as a universal driver of species richness across taxa, biomes and spatial scales.** Ecology letters, v. 17, n. 7, p. 866-880, 2014.

TAN, Y.P; CROUS, P.W; SHIVAS, R.G. (2018). **Cryptic species of *Curvularia* in the culture collection of the Queensland plant pathology herbarium.** MycoKeys 35:1–25. Doi: 10.3897/mycokeys.35.25665.

TAYLOR ELS, RESENDE-STOIANOFF M.A, FERREIRA RL. **Mycological study for a management plan of a Neotropical show cave (Brazil).** International Journal of Speleology 42: 267–277. 2013.

TAYLOR ELS, FERREIRA R, CARDOSO PG, STOIANOFF MAR. **Cave Entrance dependent Spore Dispersion of Filamentous Fungi Isolated from Various Sediments of Iron Ore Cave in Brazil: a colloquy on human threats while**

- caving**. Ambient Science, Vol. 1(1). 2014. 16-28. Doi:10.21276/ambi.2014.01.1.ra02.
- TRAVASSOS LEP. **Geomorfologia cárstica subterrânea**. In: **Princípios de Carstologia e Geomorfologia Cárstica**. ICMBio, Brasília: 133–161. 2019.
- TSANG, C.C. et al. (2016). **Genetic diversity of Aspergillus species isolated from onychomycosis and Aspergillus hongkongensis sp. nov., with implications to antifungal susceptibility testin**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 84(2), 125–134. Doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.10.027.
- VALENZUELA, E; LEIVA, S; GODOY, R. **Variación estacional y potencial enzimático de microhongos asociados con la descomposición de hojarasca de *Nothofagus pumilio***. Revista Chilena de Historia Natural, 74:737-749, 2001. Doi:org/10.4067/S0716-078X2001000400001.
- VANDERWOLF KJ, MALLOCH D, McALPINE DF; FORBES GJ. **A world review of fungi, yeasts, and slime molds in caves**. International Journal of Speleology. 42 (1), p77-96, 2013.
- VEDOVA, R.V. et al. (2019). **Aspergillosis in domestic and wild birds from Argentina**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 56(2), e152460. Doi.org/10.11606/issn.1678.
- VICENTINI AP, PASSOS AN, SILVA DF, BARRETO LC, ASSIS CM, FREITAS RS. **Histoplasmosis: um risco ocupacional entre pesquisadores que realizam trabalho de campo?** Revista Instituto Adolfo Lutz. v.71, n.4, p. 747-752, 2012.
- VISAGIE, C.M, GOODWELL, M, NKWE D.O. (2021) **Aspergillus diversity from the Gcwihaba Cave in Botswana and description of one new species**. Fungal Systematics and Evolution. Doi.org/10.3114/fuse.2021.08.07.
- WANG, X., CAI, W., VAN DEN ENDE, A.H.G.G. et al. **Indoor wet cells as a habitat for melanized fungi, opportunistic pathogens on humans and other vertebrates**. Sci Rep 8, 7685 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26071-7>.
- WARRIS, A. **The biology of pulmonary Aspergillus infections**. Journal of Infection, v. 69, p. S36-S41, 2014. Doi: 10.1016/j.jinf.2014.07.011.
- WEISS, R. et al. (2020). **Valorisation of slaughter house and deinking paper waste streams for the production of enzyme by Trichoderma reesei**. Journal of Cleaner Production, Volume 275, 122882. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122882>.
- WEN-TING, Z. et al. (2019). **A new fusicoccane diterpene and a new polyene from the plant endophytic fungus Talaromycespinophilus and their antimicrobial activities**. Natural Product Research. Doi:10.1080/14786419.2019.1616727.
- WOUDENBERG, J.H.C; GROENEWALD, J.Z; BINDER, M; CROUS, P.W. **Alternaria redefined**. Fungal Biodiversity Institute. Studies in Mycology, Vol. 75, Número 1,

2013, pp. 171-212(42). Doi: <https://doi.org/10.3114/sim0015>.

White TJ, Bruns T, Taylor J (1990). **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics**. In: A Guide to Molecular Methods and 76 Applications (Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White JW, eds). Academic Press: 315–322.

ZAMPAULO, R.A. 2010. **Diversidade de invertebrados cavernícolas na Província Espeleológica de Arcos, Pains, Doresópolis (MG) – Subsídios para a determinação de áreas prioritárias para conservação**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2010.

ZAMPAULO RA. **Diversidade de espécies troglóbias em cavidades ferríferas do Parque Estadual da Serra do Rola Moça (PESRM), Minas Gerais**. In: Anais... Campinas: SBE: 87–97. 2015.

ZHANG ZF, LIU F, ZHOU X, et al. (2017). **Culturable mycobiota from Karst caves in China, with descriptions of 20 new species**. *Persoonia* 39: 1–31 doi: 10.3767/persoonia.2017.39.01.

ZHANG ZF, ZHAO P, CAI L. (2018). **Origin of Cave Fungi**. *Front. Microbiol. Sec. Evolutionary and Genomic Microbiology*. Vol. 9. doi.org/10.3389/fmicb.2018.01407.

ZHANG ZF, ZHOU SY, EURWILAICHITR L, et al. (2021). **Culturable mycobiota from Karst caves in China II, with descriptions of 33 new species**. *Fungal Diversity* 106: 29–136. Doi.org/10.1007/s13225-020-00453-7.

ZHANG, K. et al. **Biodegradation of polyester polyurethane by the marine fungus *Cladosporium halotolerans* 6UPA1**. *Journal of Hazardous Materials*, Volume 437, 2022. Doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129406.